

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
INHALTSSTOFFE VON
Passiflora coerulea L., *P. decaisneana* Planch.,
P. edulis Sims, *P. foetida* L., *P. incarnata* L.,
P. subpeltata Ortega und *P. warmingii* Mast.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
des
Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

JÜRGEN LÖHDEFINK
aus Hannover

Marburg/Lahn 1974

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
INHALTSSTOFFE VON

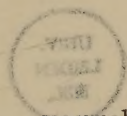
Passiflora coerulea L., *P. decaisneana* Planch.,
P. edulis Sims, *P. foetida* L., *P. incarnata* L.,
P. subpeltata Ortega und *P. warmingii* Mast.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn



vorgelegt von

JÜRGEN LÖHDEFINK

aus Hannover

Marburg/Lahn 1974



Vom Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn als

Dissertation angenommen am:

6. Dezember 1974

Tag der mündlichen Prüfung:

18. Dezember 1974

Berichterstatteur:

Prof.Dr. H. Kating

Mitberichterstatteur:

Prof.Dr. P.H. List

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Pharmazeutische Biologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn in der Zeit von Oktober 1970 bis Oktober 1974 unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Kating angefertigt, dem ich für Anregungen und Diskussionen herzlich danke.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. H. Sauer, Akad. Oberrat am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn für seine stete Hilfsbereitschaft, Herrn Dr. F. Seidel, Akad. Oberrat am Botanischen Garten der Philipps-Universität Marburg, für die Anzucht und systematische Bestimmung sowie Herrn Gartenmeister G. Pabst für die gärtnerische Betreuung der Pflanzen herzlich danken.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>A. Allgemeiner Teil</u>	
I. Einleitung und Problemstellung	1
II. Bemerkungen zur Systematik und Verbreitung der Passifloraceen	2
III. Material und Methoden	4
<u>B. Ergebnisse</u>	
I. Untersuchung der Flavonoide	10
1) Bisherige Untersuchungen	10
2) Qualitative Untersuchungen der Flavonoidfraktion	11
a) <i>P. incarnata</i>	13
b) <i>P. decaisneana</i>	17
c) <i>P. foetida</i>	20
d) <i>P. warmingii</i>	24
e) <i>P. coerulea</i>	30
f) <i>P. edulis</i>	35
g) <i>P. subpeltata</i>	40
3) Zusammenfassung der qualitativen Ergebnisse	48
4) Quantitative Untersuchungen der Flavonoidfraktion	51
5) Diskussion über die Ergebnisse der Flavonoid-Untersuchungen	54
II. Untersuchung der Alkaloide	58
1) Anreicherung der Alkaloide	59
2) Qualitative Untersuchungen der Alkaloidfraktionen	59
3) Quantitative Untersuchungen der Alkaloidfraktionen	62
4) Diskussion der Ergebnisse der Alkaloid-Untersuchungen	64

III.	Untersuchung der Lipoidfraktion	65
1)	Fettsäuren	65
a)	Untersuchung der n-Fettsäuren	66
b)	Abtrennung und Untersuchung der gesättigten Fettsäuremethylester	72
c)	Untersuchung der ungesättigten Fettsäuremethylester	74
d)	Quantitative Bestimmungen der Fettsäurerefraktion	77
2)	Kohlenwasserstoffe	80
a)	Untersuchung der Terpen-Kohlenwasserstoffe	81
b)	Untersuchung der n-Alkane	84
c)	Untersuchung der iso-Alkane	85
3)	Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen der Lipoidfraktion	88
IV.	Zusammenfassung	90

C. Experimenteller Teil

I.	Anbau der Versuchspflanzen	92
II.	Ernte und Trocknung	93
III.	Extraktion	93
IV.	Allgemeine Untersuchungsmethoden	94
1)	Analytische Dünnschichtchromatographie	94
2)	Präparative Schichtchromatographie	97
3)	Säulenchromatographie	99
4)	Gaschromatographie	100
5)	Papierchromatographie	102
6)	UV-Spektroskopie	103
7)	IR-Spektroskopie	105
8)	Schmelzpunktbestimmungen	105

V.	Untersuchungen der Flavonoidfraktion	106
1)	Isolierung der Flavonoide	106
2)	Hydrolyse der Flavonoidfraktion	106
3)	Isolierung von Aglyca und Zuckern aus Glycosiden	106
4)	Isolierung einzelner Flavonderivate	107
5)	Gehaltsbestimmungen der Flavonoide	107
a)	Gravimetrische Methode	
b)	Photometrische Methode	
VI.	Untersuchungen an der Alkaloidfraktion	108
1)	Isolierung der Alkaloidfraktion	108
2)	Anreicherung der Alkaloide	108
3)	Bestimmung des Gesamtalkaloid-Gehaltes	109
4)	Bestimmung des Harmangehaltes	109
VII.	Untersuchungen der Fettsäurefraktion	110
1)	Isolierung der Fettsäuren	110
2)	Methylierung der Fettsäuren	110
3)	Reinigung der Fettsäuremethylester	111
4)	Trennung der ungesättigten von den gesättigten Fettsäuremethylestern	111
5)	Adduktspaltung	111
6)	Darstellung der Hydroxamate	112
7)	Hydrierung der ungesättigten Fettsäuren	112
8)	Oxidativer Abbau der ungesättigten Fettsäuren	112
VIII.	Untersuchungen der Kohlenwasserstoff-Fraktion	113
1)	Isolierung der Kohlenwasserstoff-Fraktion	113
2)	Bildung der Harnstoffaddukte	113
3)	Trennung der Iso- und n-Alkane	113

IX. Herkunft der Vergleichssubstanzen

114

D. Tabellenanhang

115

F. Literaturverzeichnis

128

A. Allgemeiner Teil

I. Einleitung und Problemstellung

Die Droge *Herba Passiflorae incarnatae* bzw. aus ihr hergestellte Arzneizubereitungen, finden in der Volksmedizin (TSCHIRCH, 1909, s.auch AMBÜHL, 1966), der Homöopathie und gelegentlich auch in der Allopathie Verwendung (HAB, 1958; H.BRAUN, 1968; ROTE LISTE, 1972). Als Stammpflanze für Arzneizubereitungen wird vom Homöopathischen Arzneibuch (1958) und Schweizer Arzneibuch (1973) *Passiflora incarnata* angegeben. Da die Droge relativ teuer ist, tauchen im Handel immer wieder Verfälschungen auf, die vor allem in geschnittenem Zustand schwer als solche zu erkennen sind (SCHILCHER, 1967). So wurde in einer Untersuchung der in Deutschland auf dem Drogenmarkt befindlichen "*Herba Passiflorae incarnatae*" festgestellt, daß neben *P. incarnata* noch fünf weitere *Passiflora*-Arten unter dieser Bezeichnung gehandelt wurden (SCHILCHER, 1967).

Pharmakologische Untersuchungen liegen vor allem über *P. incarnata* und *P. coerulea* vor (u.a. PARIS, 1963; FISCH, 1932; RIESS, 1932; DE NITO, 1931; FELLOWS and SMITH, 1938; NEUGEBAUER, 1949). *P. incarnata* wird vor allem als Sedativum, Hypnotikum und Antispasmodikum eingesetzt (L.RIESS, 1932; A.FISCH, 1932; H.BRAUN, 1968). Den Eingeborenen Südamerikas sind vielfältige Wirkungen auch anderer *Passiflora*-Arten bekannt (s. Zusammenstellung von H.AMBÜHL, 1966). Vergleichende Untersuchungen über die Inhaltsstoffe dieser Arten fehlen jedoch, da sich das Interesse bisher weitgehend auf *P. incarnata* beschränkt hatte. Erst in jüngster Zeit sind Untersuchungen der Flavonoide und Alkaloide an einigen anderen Arten vorgenommen worden (B.GLOTZ-BACH und H.RIMPLER, 1968 [Flavonoide]; H.AMBÜHL, 1966 [Alkaloide]; W.POETHKE und Mitarb., 1970 a und b [Alkaloide und Flavonoide]).

Ziel der Untersuchungen war es, die verstreuten Befunde über die bislang untersuchten *Passiflora*-Arten durch vergleichende Untersuchungen zu überprüfen und die Kenntnisse auf ein größeres Artenmaterial zu erweitern. Hierbei sollten Fragen der Variation der Inhaltsstoffführung insbesondere der Flavonoide und Alkaloide im Vordergrund stehen. In die vergleichenden phytochemischen Untersuchungen wurden auch die Alkane und Fettsäuren einbezogen. Die sieben von uns untersuchten *Passiflora*-Arten wurden zu diesem Zwecke unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus angezogen.

II. Bemerkungen zur Systematik und Verbreitung der Passifloraceen

Über die systematische Stellung der Familie der Passifloraceen besteht keine Einheitlichkeit. Die meisten Systematiker stellen die Familie unter die Ordnung (oder Reihe) der Parietales oder Violales (A. ENGLER, K. PRANTL, 1925; D. FROHNE und U. JENSEN, 1973), während im System nach A. TAKHTAJAN (1969), KNAUR (1964) und HUTCHINSON (1959) eine eigene Ordnung der Passiflorales aufgeführt wird.

Die Familie der Passifloraceae umfaßt 12 Gattungen mit ca. 600 Arten und kommt in den Tropen und Subtropen vor. Die mit 400 Arten umfangreichste Gattung *Passiflora*, die fast ausschließlich im tropischen Amerika vorkommt, zeichnet sich durch ein mehr oder weniger langes Androgynophor aus und wird ihrerseits in 22 Sektionen unterteilt (E. P. KILLIP, 1938). Die Mehrzahl der Arten sind Rankenpflanzen, die vielfältige Blüten- und Blattformen zeigen. Die in dieser Arbeit untersuchte *P. warmingii* gehört zur Sektion *Plectostemma*, *P. foetida* zur Sektion *Dysosmia*. Die restlichen untersuchten Arten gehören verschiedenen Reihen der Sektion *Granadilla* an (*P. decaisneana* = 1. Reihe; *P. incarnata* und *P. edulis* = 9. Reihe; *P. subpeltata* und *P. coerulea* = 14. Reihe).

Heute werden in allen tropischen und subtropischen Gebieten *Passiflora*-Arten aus verschiedenen Gründen kultiviert. So wird z.B. *P. foetida* in Kautschukulturen zur Bedeckung des Bodens angebaut (A. ENGLER, K. PRANTL, 1925).

Andere Arten werden ihrer recht großen und wohlschmeckenden Früchte wegen geschätzt, z.B. *P. alata*, *P. edulis*, *P. quadrangularis* usw. (A. ENGLER, 1964). Auch die dunkelblauen, etwa pflaumengroßen Früchte der *P. coerulea* sind bei den Einheimischen sehr beliebt (KNAUR, 1964). Viele Arten und Bastarde werden wegen ihrer prachtvollen Blüten als Zierpflanzen angebaut, z.B. *P. coerulea* (ENGLER, 1964).

III. Material und Methoden

Die von uns untersuchten *Passiflora*-Arten (s.Tab.1) wurden in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens der Universität Marburg kultiviert. Diese Arten unterscheiden sich im Habitus, Blütenbau und Blattform recht erheblich. In Abb.1 sind die unterschiedlichen charakteristischen Blattformen und Sproßenden der Arten gezeichnet worden (s.hierzu E.P.KILLIP, 1938).

Tabelle 1: Verbreitungsgebiete der untersuchten *Passiflora*-Arten.

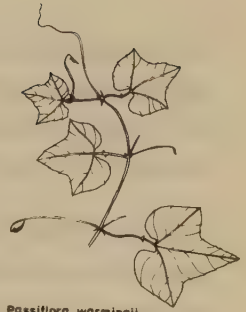
Art	Vorkommen
<i>P. caerulea</i> L.	Brasilien, südl.Argentinien
<i>P. decaisneana</i> Planch.	Nordöstl. Peru, östl.Brasilien
<i>P. edulis</i> Sims	Brasilien, Paraguay, Argentinien, Jamaica, Zentralamerika, nördl. Venezuela und Equador
<i>P. foetida</i> L.	Puerto Rico, Jamaica, Kleine Antillen, Südamerika
<i>P. incarnata</i> L.	Virginia bis Missouri, südl. Florida und Texas, Bermudas, USA
<i>P. subpeltata</i> Ortega	Zentralmexiko, Zentralamerika bis Columbien und Venezuela, Cuba, Haiti
<i>P. warmingii</i> Mast.	Südwestl.Columbien, östl.-zentrales und südl. Brasilien, Paraguay



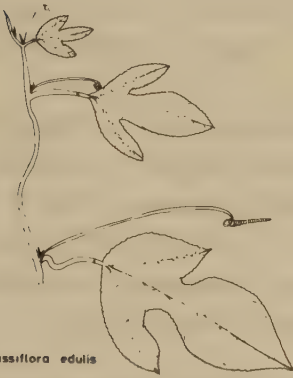
Passiflora incarnata



Passiflora coerulea



Passiflora warmingii



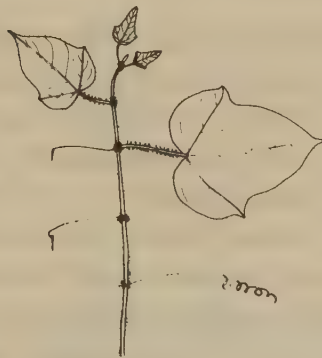
Passiflora edulis



Passiflora decaisniana



Passiflora subpeltata



Passiflora foetida

Abb. 1: Blattformen und Sproßenden der untersuchten *Passiflora*-Arten (ca. 1/6 der natürlichen Größe).

Alle Arten wuchsen unter den gleichen Bedingungen auf. Die oberirdischen Pflanzenteile wurden von Juni bis September 1972 in bestimmten Zeitabständen geerntet. Nach der Ernte wurde das Material sofort bei 45⁰ C im Umlufttrockenschrank getrocknet und in verschlossenen Gefäßen lichtgeschützt aufbewahrt.

Für die Untersuchungen der Inhaltsstoffe wurden solche Methoden angewendet, die bei den vielen anfallenden, aus geringen Drogenmengen gewonnenen Proben Reihenanalysen ermöglichten.

Fettsäuren und Alkane wurden vom Petrolätherextrakt abgetrennt, gaschromatographisch untersucht und durch Vergleich der relativen Retentionsvolumina mit denen authentischer Substanzen identifiziert (Trennungs- und Nachweisgang s. Abb. 29, S. 67).

Alkaloide und Flavonoide wurden aus dem Methanolextrakt nach Digerieren mit Wasser durch Aufnahme in organische Lösungsmittel gewonnen (Flavonoide in Essigsäureäthylester bei pH 7, Alkaloide aus dem sauren Wasserextrakt in Essigsäureäthylester bei pH 9 und in Chloroform bei pH 11 W. POETHKE u. Mitarb. 1970 a und b; s. auch exp. Teil, S. 106 und S. 108,). Die Auftrennung des Methanolextraktes zur Gewinnung der Flavonoid- und Alkaloid-Fractionen zeigt die Abb. 2.

Die Untersuchung der Alkaloide erfolgte durch Dünnschichtchromatographie und nach Isolierung durch UV-Spektren sowie durch Vergleich mit authentischen Substanzen (s. S. 59 und exp. Teil, S. 103).

Zur qualitativen Untersuchung flavonhaltiger Extrakte stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung: Dünnschichtchromatographie an Kieselgel, Polyamid oder Cellulose (E. STAHL, 1967; T. J. MABRY und Mitarb., 1970; s. auch J. B. HARBORNE, 1967 a und b) und Papierchromatographie, die sich vor allem zur Trennung höher glycosidierter Gemische bewährt (T. J. MABRY und Mitarb., 1970; J. B. HARBORNE, 1967 a). Die meisten Flavonderivate sind auf unbehandelten Dünnschicht- und Papierchromatogrammen als dunkle Flecken sichtbar; Flavonole und 5-Desoxyflavone zeigen eine helle bzw. hellblaue Eigenfluoreszenz (T. J. MABRY u. Mitarb., 1970; s. auch K. R. MARKHAM und T. J. MABRY, 1968; J. B. HARBORNE, 1967 b).

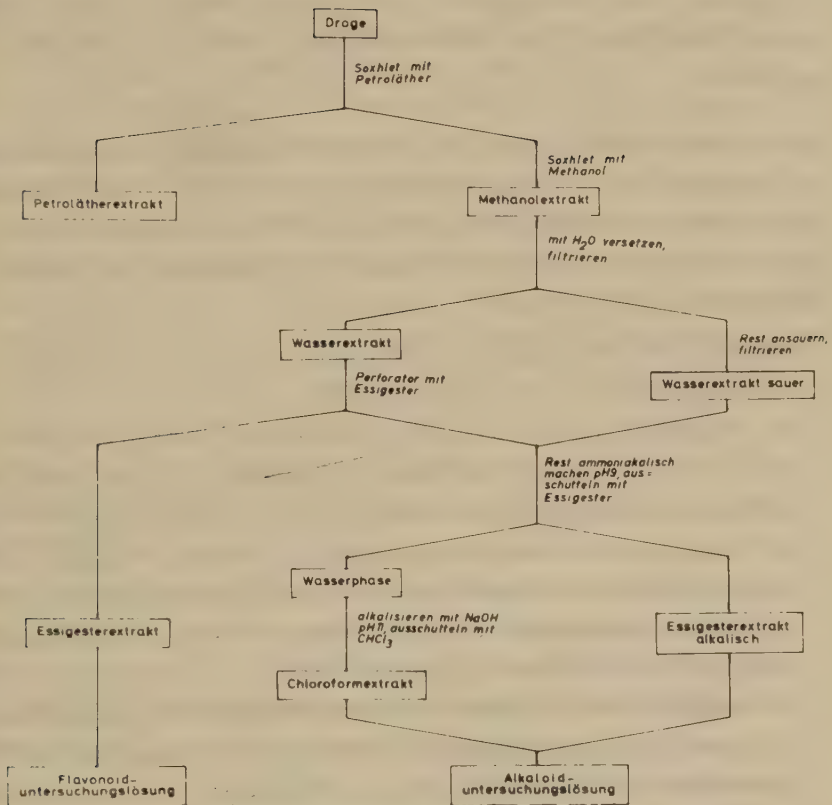


Abb.2: Schematische Darstellung der Auftrennung des Methanolextraktes zur Gewinnung der Flavonoid- und Alkaloid-Fraktion aus dem Kraut der Passifloraceen.

Durch komplexbildende Stoffe wie Aluminiumchlorid oder Borsäure wird die Fluoreszenz verstärkt (E. STAHL, 1967; W. WILDANGER und K. HERRMANN, 1973).

Einzelne Flecken wurden durch präparative Schichtchromatographie isoliert. Zur Untersuchung der uns zur Verfügung stehenden geringen Mengen an Material mußten wir uns auf die Bestimmung der hR_f -Werte und auf die Aufnahme von UV-Spektren beschränken.

Die UV-Spektren von Flavonoiden besitzen besonders nach Zusatz von ionisierenden und komplexbildenden Substanzen eine hohe Aussagekraft für die Identifizierung und evtl. zur Strukturaufklärung. Im folgenden seien kurz die wesentlichen Struktur-
aussagen zusammengefaßt, die sich mit Hilfe der UV-Spektroskopie bei Flavonen und Flavonolen treffen lassen:

- 1) Flavone und Flavonole zeigen in Methanol zwei typische Banden bei 240 bis 280 nm (Bande II) und 300 - 380 nm (Bande I).
- 2) Durch Zusatz von Natriummethylat zur methanolischen Lösung werden sämtliche OH-Gruppen des Moleküls ionisiert, wodurch sich alle Banden verschieben. Eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 40 - 60 nm ohne Verminderung der Intensität deutet auf eine Hydroxygruppe in 4'-Stellung, während die bathochrome Verschiebung der Bande I um 50 - 65 nm bei einer Abnahme der Intensität auf eine Hydroxygruppe am C-Atom 3 hinweist. Ein 3,4'-Dihydroxysystem führt zu einem fast völligen Abflachen der Maxima.
- 3) Natriumacetat ionisiert als schwache Base spezifisch die OH-Gruppe in 7-Stellung; eine bathochrome Verschiebung der Bande II um 5 - 20 nm deutet auf die Anwesenheit einer freien Hydroxygruppe in 7-Stellung hin. Eine freie OH-Gruppe am C-Atom 4' läßt sich ebenfalls durch Natriumacetat nachweisen, allerdings nur, wenn keine zusätzlichen freien OH-Gruppen in 3- oder 7-Stellung vorliegen. Tritt nach Zusatz von Natriumacetat zur methanolischen Lösung eine Schulter bei Bande I auf der Seite der höheren Wellenlängen auf, kann auf die Anwesenheit einer freien OH-Gruppe am C-Atom 4' und auf die Abwesenheit von freien OH-Gruppen in 3- und 7-Stellung geschlossen werden.

- 4) Borsäure bildet mit o-Dihydroxygruppen des B-Ringes Chelatkomplexe, die eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 12 - 30 nm bewirken. Eine Verschiebung der Bande I um 5 - 10 nm deutet auf 6, 7- oder 7, 8-Dihydroxygruppen hin.
- 5) Aluminiumchlorid bildet ebenfalls mit o-Dihydroxygruppen Chelatkomplexe. Bei Beteiligung der Ketogruppe am C-Atom 4 sind diese Komplexe säurestabil, während o-Dihydroxygruppen im B-Ring säurelabile Chelatkomplexe verursachen. Eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 30 - 40 nm im Vergleich der Spektren nach Zusatz von Aluminiumchlorid und Aluminiumchlorid/Salzsäure deutet auf o-Dihydroxygruppen im B-Ring. Beträgt die Verschiebung nach Zusatz von Aluminiumchlorid gegenüber dem Methanolspektrum nur ca. 20 nm, kann auf eine 5, 6-Dihydroxygruppe geschlossen werden. Hydroxygruppen an den C-Atomen 3 und 5 lassen sich durch die säurestabilen Verschiebungen der Bande I nach Zusatz von Aluminiumchlorid zur methanolischen Lösung aufzeigen (bathochrome Verschiebung bei einer Hydroxygruppe am C-Atom 5: 35 - 55 nm; bei einer OH-Gruppe in 3-Stellung: ca. 60 nm; bei 3, 5-Dihydroxygruppen liegen die Werte zwischen denen für die 3-Hydroxy- und 5-Hydroxy-Verbindungen).

Es lassen sich damit freie OH-Gruppen an den C-Atomen 3, 5, 6, 7 und 4' sowie o-Dihydroxygruppen nachweisen (Aufnahme und Deutung der Spektren nach den Standardbedingungen von T.J.MABRY u.Mitarb., 1970; s.auch L.J.PORTER und K.R.MARKHAM, 1972; K.R.MARKHAM und T.J.MABRY, 1968 a und b; T.J.MABRY, 1972; s. experimenteller Teil, S.103).

B. Ergebnisse

I. Untersuchung der Flavonoide

1. Bisherige Untersuchungen

Die bisher untersuchten Arten *P. incarnata*, *P. bryonoides*, *P. quadrangularis* und *P. pulchella* zeichnen sich durch überwiegendes Vorkommen von Flavon-C-Glycosiden aus (B.GLOTZBACH und H.RIMPLER, 1968; H.SCHILCHER, 1968; W.POETHKE u.Mitarb., 1970 b). Methylierte Flavone wurden nicht, O-Glycoside nur bei *P. bryonoides* beschrieben (W.POETHKE u.Mitarb., 1970 b). In Tab.2 sind die in den untersuchten Arten bisher aufgefundenen Flavonderivate aufgeführt, Abb.3 zeigt die entsprechenden Formeln.

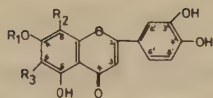
Tabelle 2: Die bisher in *Passiflora*-Arten gefundenen Flavonderivate *)

	Vitexin	Isovitexin	Saponarin	Orientin	Isoorientin	Apigenin-7-glucosid	Kämpferol-3-biosid	nicht identifizierte Flavonoide
<i>P. incarnata</i>	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>P. bryonoides</i>	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>P. quadrangularis</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>P. pulchella</i>	+	+	+	-	+	-	-	+

Andere Arbeiten, die sich mit der Auftrennung des Flavonkomplexes beschäftigen, führten nicht zur Identifizierung einzelner Verbindungen (H.SCHINDLER, 1955; M.OSWIECISMKA, 1958; H.AMBÜHL, 1966; PH.THEODOSSIOU, 1965).

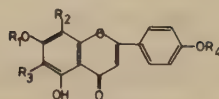
*) In einer neuen Untersuchung wurden bei *P. incarnata* die Flavonaglyca Apigenin, Luteolin, Quercetin und Kämpferol beschrieben (N.M.GAVASHELI

Luteolin - Typ:



R ₁	R ₂	R ₃	
H	H	H	Luteolin
Glucose	H	H	Luteolin-7-glucosid
H	glucosyl	H	Orientin
H	H	glucosyl	Iscorientin

Apigenin - Typ:



R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
H	H	H	H	Apigenin
Glucose	H	H	H	Apigenin-7-glucosid
H	glucosyl	H	H	Vitexin
H	H	glucosyl	H	Isovitexin
Glucose	H	glucosyl	H	Saponarin

Kämpferol:

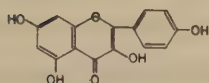


Abb.3: Konstitutionsformeln der bislang in *Passiflora*-Arten gefundenen Flavonoide.

Quantitative Untersuchungen des Flavonoidgehaltes wurden durchgeführt bei *P. bryonoides* (0,2 % ; gravimetrisch bestimmt von W.POETHKE u. Mitarb., 1970) und bei *P. incarnata* (1,5 bis 2,1 % ; photometrisch ermittelt von H.SCHILCHER, 1967).

2. Qualitative Untersuchungen der Flavonfraktion

Die in den Extrakten der von uns untersuchten *Passiflora*-Arten enthaltenen Flavonoide wurden vor und nach einer Säurehydrolyse untersucht. (Zur Frage der Hydrolyse von Flavonglycosiden s. B.H. KOEPPEN, 1965; J.B.HARBORNE, 1965; T.J.MABRY u. Mitarb., 1970.) Bei den vorliegenden Glycosiden reicht nach unseren Erfahrungen eine Hydrolysezeit von 1 h bei Verwendung von 2 N Salzsäure aus, wenn auch die Spaltung in einigen Fällen nicht vollständig war. Die Ergebnisse wurden in allen Fällen qualitativ überprüft mit einer Hydrolysedauer von 7 h unter Verwendung von 5 N Salzsäure.

Die Flavonglycoside der untersuchten Arten wurden in vier Systemen chromatographiert (s. auch exp. Teil, S. 96) :

System I : Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 9, Ameisensäure 1, Wasser 1.

System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4.

System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase).

System IV: Adsorbens: Papier (zweidimensional); Fließmittel 1. Laufrichtung: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; Fließmittel 2. Laufrichtung: Essigsäure 15 %.

Die im System I sichtbaren Flecken wurden durch präparative Dickschichtchromatographie isoliert und chromatographisch und UV-spektroskopisch vor und nach der Hydrolyse untersucht.

Zur chromatographischen Trennung der auftretenden Flavonaglyca erwiesen sich die folgenden Systeme als geeignet: (s. auch exp. Teil, S. 97)

System V : Adsorbens: Kieselgel; Fließmittel: Cyclohexan 35, Ameisensäureäthylester 30, Dichlormethan 30, Ameisensäure 5.

System VI: Adsorbens: Kieselgel; Fließmittel: Toluol 5, Ameisensäureäthylester 4, Ameisensäure 1.

System VII: Adsorbens: Papier; Fließmittel: Chloroform 50, Eisessig 45, Wasser 10 (aufsteigend).

Zur Detektion der Flavonoidflecken wurden die Chromatogramme im UV-Licht (360 nm) vor und nach Behandeln mit Ammoniakdämpfen betrachtet (dunkle Fluoreszenz, bzw. helle Fluoreszenz der Flavonole). Als Sprühmittel erwies sich eine Bor-Oxalsäure-Lösung (s. exp. Teil, S. 96) als optimal; nach Erhitzen fluoreszierten die Flavone gelb.

Wir wählten folgende Bezeichnung der Flecke: Der erste Buchstabe bedeutet F = Flavonglycosid und A = Aglycon; die Zahl stellt die aufsteigende Reihenfolge der R_f -Werte der Chromatographie (Adsorbens = Kieselgel) dar, während der letzte Buchstabe die Passiflora-Art angibt, in deren Extrakt die betreffende Substanz nachgewiesen wurde (I = incarnata, D = decaisneana, F = foetida, W = warmingii, G = gracilipes, E = erubescens und S = subcordata).

a) P. incarnata

Die Flavonführung von *P. incarnata* ist von W. POETHKE u. Mitarb. (1970 b), H. SCHILCHER (1968) und B. GLOTZBACH und H. RIMPLER (1968) mit zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen untersucht worden. Deshalb wurde *P. incarnata* neben den anderen sechs Arten in unsere Untersuchungen einbezogen.

α) Aglyca

Im angereicherten Flavonoid-Extrakt von *P. incarnata* lassen sich keine freien Aglyca nachweisen. Erst nach 7 -stündigem Kochen mit 5 N Salzsäure erschien ein Fleck, der mit A 2 I bezeichnet wurde. Die h_{Rf}-Werte dieses Fleckes stimmen mit denen des Apigenins überein (s. Tab.16 im Anhang, S.117). Da auch die Absorptionsmaxima der UV-Spektren (s. Tab.31 im Anhang, S.125) und die IR-Spektren übereinstimmen (s. Abb.4), wird das Vorkommen des Aglycons Apigenin für *P. incarnata* bestätigt. (Zur Aufnahme und Deutung der IR-Spektren s. exp. Teil, S.105.)

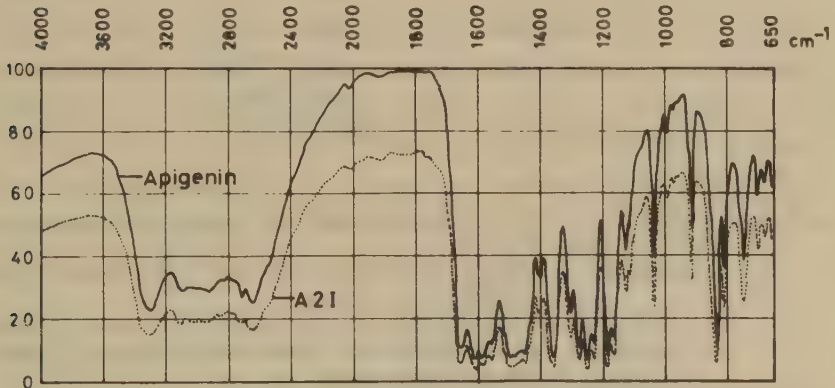


Abb.4: IR-Spektren der Substanz A 2 I aus *P. incarnata* und Apigenin-Reinsubstanz.

β) Glycoside

Die chromatographische Auftrennung des *P. incarnata*-Extraktes in den Systemen I bis IV ist in Abb.5 wiedergegeben worden.

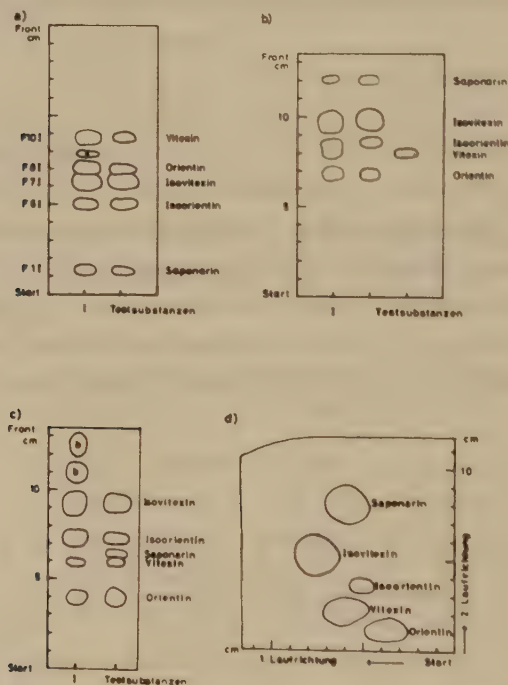


Abb.5: Dünnschicht- und Papierchromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. incarnata* (= I).

- a = System I:** Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 9, Ameisensäure 1, Wasser 1;
- b = System II:** Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;
- c = System III:** Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);
- d = System IV:** Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 % (Co-Chromatographie mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen); Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reag. Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz.

Die blau fluoreszierenden Flecken wurden nicht näher untersucht, da es sich nach Aussage der UV-Spektren nicht um Flavone handelt (s. Flecken b). Wie in Abb. 5a angegeben, wurden die auftretenden Flecken als F 1 I, F 6 I, F 7 I, F 8 I und F 10 I bezeichnet, mittels präparativer Dickschichtchromatographie isoliert und einzeln chromatographisch und UV-spektroskopisch zur weiteren Identifizierung untersucht.

Fleck F 1 I = Saponarin

Die hRF-Werte des Fleckens F 1 I in den Systemen I bis IV sind mit denen des Saponarins identisch (s. Tab. 15 im Anhang, S. 116). Die Säurehydrolyse ergab chromatographisch Glucose und Isovitexin, das durch UV-Spektren identifiziert wurde (analog Fleck F 8 I, S. 16). Die UV-Spektren von F 1 I zeigen OH-Gruppen in 5- und 4'-Stellung an; die Spektren sind identisch mit denen des Saponarins (s. Tab. 17 im Anhang, S. 118).

Fleck F 6 I = Isoorientin

Die hRF-Werte des Fleckens F 6 I in den Systemen I bis IV stimmen mit denen des Isoorientins überein (s. Tab. 15 im Anhang, S. 116). Nach 3-stündigem Kochen mit Säure war der Fleck noch vorhanden; dazu trat ein zweiter Fleck auf, der als Orientin identifiziert wurde (Entstehung durch WESSELY-MOSER-Rearrangement aus Isoorientin; s. hierzu M.K. SEIKEL und T.A. GEISSMAN, 1957; R.M. HOROWITZ und B. GENTILI, 1964; M.K. SEIKEL u. Mitarb., 1966; J.W. WALLACE u. Mitarb., 1969). Die UV-Spektren von F 6 I machen freie Hydroxylgruppen in 7-, 5-, 3'- und 4'-Stellung wahrscheinlich. Die Absorptionsmaxima von F 6 I sind mit denen von Isoorientin identisch (s. Tab. 23 im Anhang, S. 121).

Fleck F 7 I = Isovitexin

Die chromatographischen und spektroskopischen Daten des Fleckens F 7 I stimmen mit denen des Isovitexins überein (s. Tab. 15 und Tab. 24 im Anhang, S. 116 und S. 121). Die UV-Spektren des Fleckens F 7 I in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Substanzen zeigen, daß in 5-, 7- und 4'-Stellung freie Hydroxylgruppen vorliegen. Nach Säurehydrolyse wurde das Auftreten von Vitexin durch WESSELY-MOSER-Rearrangement beobachtet (s. Fleck F 6 I).

Fleck F 8 I = Orientin

Die hRf-Werte von F 8 I in den Systemen I bis IV und die Absorptionsmaxima der UV-Spektren sind in den Tab.15 und 25 im Anhang, S.116 und S.122 zusammengestellt. Sie sind mit denen des Orientins identisch. Säurehydrolyse des Fleckens F 8 I ergab u.a. Isoorientin (WESSELY-MOSER-Rearrangement ; s.oben).

Fleck F 10 I = Vitexin

Die chromatographischen Daten des Fleckens F 10 I sind mit denen des Vitexins identisch (s.Tab.15 im Anhang, S. 116). Hydroxylgruppen in 5-, 7- und 4'-Stellung werden durch die Verschiebungen der Absorptionsmaxima der UV-Spektren wahrscheinlich gemacht; die UV- und IR-Spektren stimmen mit denen des Vitexins überein (s.Tab.29 im Anhang, S.124 und Abb.6). Durch WESSELY-MOSER-Rearrangement entsteht nach Säurehydrolyse Isovitexin.

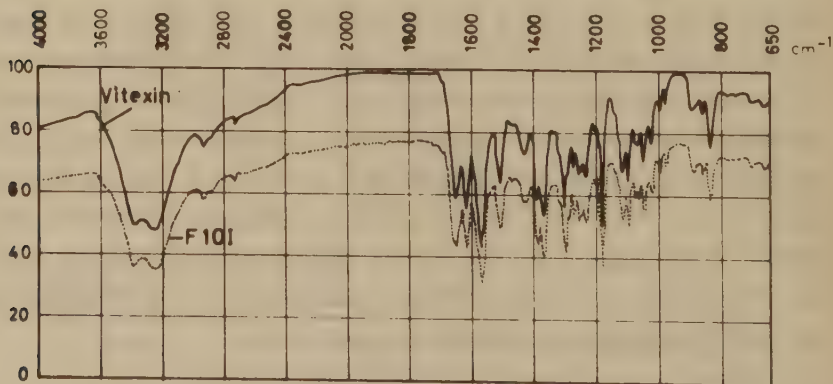


Abb.6: IR-Spektren der Substanz F 10 I aus *P. incarnata* und Vitexin-Reinsubstanz.

Mit diesen Analysen wird das Vorkommen von Saponarin, Orientin, Isoorientin, Vitexin und Isovitexin bestätigt (s. Literaturangaben, S. 10).

b) Passiflora decaisneana

Diese Art ist unseres Wissens noch nicht auf ihren Flavonoidgehalt hin untersucht worden. In dem angereicherten Flavonextrakt von *P. decaisneana* lassen sich auch nach 7-stündiger Hydrolyse Flavonaglyca nicht nachweisen.

Die Ergebnisse der Chromatographie der Glycoside sind in Abb.7 zusammengestellt. Die nach Abb.7a als F 4 D bezeichnete Substanz wurde bisher in *Passiflora*-Arten nicht nachgewiesen. Sie wurde ebenso wie die als Substanz F 10 D bezeichnete Substanz durch präparative Dickschichtchromatographie isoliert und untersucht.

Fleck F 4 D

Die hRf-Werte der Substanz F 4 D in den Systemen I bis IV stimmen nicht mit denen von bisher in *Passiflora*-Arten gefundenen Flavonderivaten überein (s.Tab.15 im Anhang, S.116); sie machen das Vorliegen eines Diglycosids wahrscheinlich. Nach Hydrolyse durch einstündiges Kochen mit Säure wurden Glucose papierchromatographisch und Vitexin papier- und dünn-schichtchromatographisch sowie durch UV-Spektren identifiziert (analog Fleck F 10 I, S.16). Das molare Verhältnis Vitexin : Glucose wurde durch eine Zuckerbestimmung mit 1 : 1 ermittelt (s. exp. Teil, S.107). Nach längerer Säurebehandlung bildete sich aus dem primär entstandenen Vitexin durch WESSELY-MOSER-Rearrangement Isovitexin.

Die Verknüpfung der Glucose mit Vitexin wurde mit Hilfe der UV-Spektren untersucht (Abb.8 zeigt die UV-Spektren der Substanz F 4 D, während die Absorptionsmaxima in Tab.21 im Anhang, S.120 , zusammengestellt sind). Zu diesem Zweck wurden die Verschiebungen von F 4 D denen von Vitexin gegenübergestellt (Tab.3 ; s. auch Tab.4).

Tabelle 3: Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren der Substanz F 4 D und Vitexin.

Substanz	Verschiebungen der Maxima in nm nach Reagentienzusatz zur methanolischen Lösung			
	AlCl ₃ Bande I	AlCl ₃ /HCl Bande I	NaOAc Bande II	NaOMe Bande I
F 4 D	57	56	8	63
Vitexin	50	48	10	58

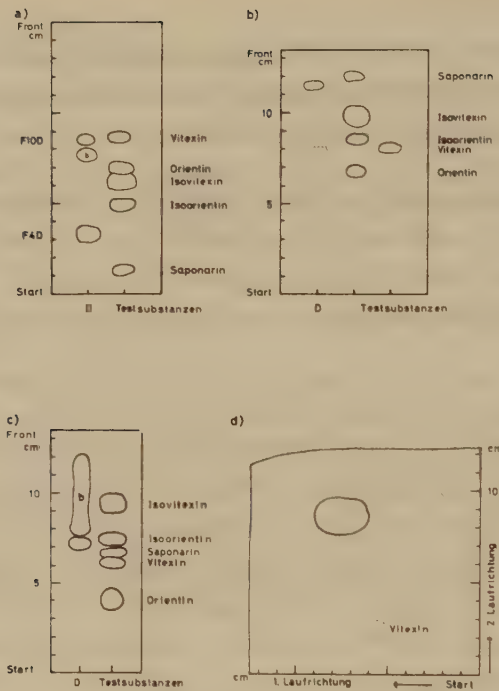


Abb. 7: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. decaisneana* (= D).

a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;

b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;

c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);

d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 % (Co-Chromatographie mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen); Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz.

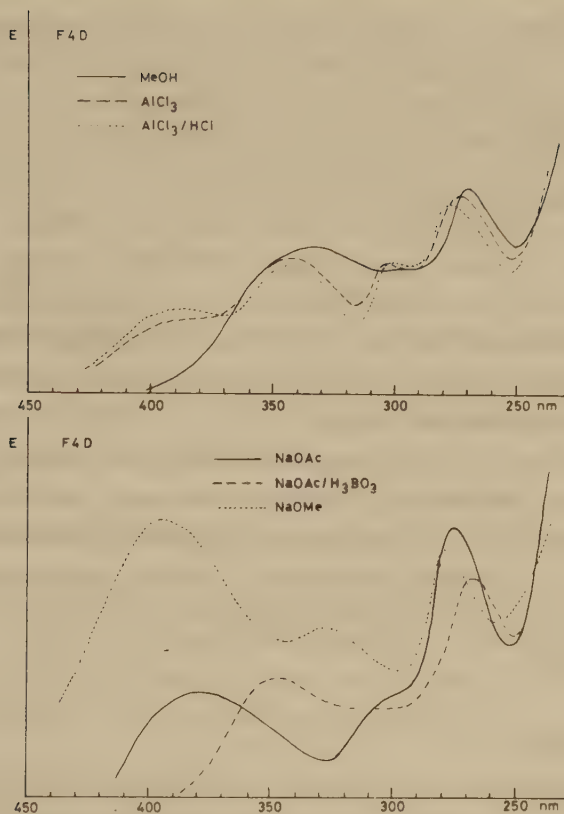


Abb.8: UV-Spektren der Substanz F 4 D aus *P. decaisneana* in Methanol und nach Zusatz ionisierender und komplexbildender Reagentien.

Sämtliche bei Vitexin auftretenden Verschiebungen der Maxima werden bei der Substanz F 4 D ebenfalls beobachtet, d.h. es müssen die Hydroxylgruppen in 5-, 7- und 4'-Stellung wie beim Vitexin auch bei F 4 D frei vorliegen. Nach den spektralphotometrischen Untersuchungen kann es sich demnach bei der Substanz F 4 D nur um ein Vitexinglucosid handeln, bei dem die Verknüpfung der Glucose über den Glycosylrest angenommen werden muß.

In einer Übersichtsarbeit von H.WAGNER (1974) werden diese Verbindungen als ein eigener Typ von Flavon-C-glycosiden aufgeführt (ein zweiter Zucker ist über Sauerstoff am Glycosylrest gebunden). Solche Glycoside sind bisher nur in einer Vitex-Art (M.K.SFIKEL u.Mitarb., 1966), in Crataegus-Arten (V.S.BATYUK u.Mitarb., 1969 und J.FISEL, 1965), in Pueraria tuberosa (S.P.BHUTANI u.Mitarb., 1969), in Trigonella foenum graecum (M.ADAMSKA und J. LUTOMSKI, 1972), in Linum maritimum (H.WAGNER u.Mitarb., 1972), in Phlox drummondii (T.J.MABRY u.Mitarb., 1971), in Orangenschalen (R.M.HOROWITZ und B.GENTILI, 1966) und in Adonis vernalis (K.GALLE, in Vorbereitung) gefunden worden. Das C-glycosidisch gebundene Disaccharid bestand immer aus zwei verschiedenen Zuckern.

Zum ersten Mal wird nunmehr in der Gattung Passiflora dieser seltene C-Glycosid-Typ aufgefunden. Darüberhinaus erscheint bemerkenswert, daß in der von uns beschriebenen Substanz die C-glycosidisch und O-glycosidisch gebundenen Zucker identisch sind (Glucose), so daß hier ein neuartiger Typ eines C-gebundenen Disaccharids vorliegen muß. Nach unseren Analysen handelt es sich bei F 4 D um Apigenin-8-C-diglucosid.

Fleck F 10 D = Vitexin

Der in Spuren vorhandene Fleck F 10 D weist mit Vitexin identische hRf-Werte in den Systemen I bis IV auf. Die UV-Spektren in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Substanzen stimmen mit denen des Vitexins überein (s. Tab.15 und Tab.29 im Anhang, S.116 und S.124).

P. decaisneana ist nach diesen Analysen durch die Führung von zwei Flavonderivaten charakterisiert: ein bisher nicht in *Passiflora*-Arten gefundenes Vitexin-O-glucosid (Apigenin-8-C-diglucosid) und Vitexin.

c) *Passiflora foetida*

Für diese Art liegen ebenfalls noch keine Angaben über die in ihr vorkommenden Flavonoide vor.

α) Aglyca

Im angereicherten Extrakt von *P. foetida* lassen sich chromatographisch zwei freie Aglyca nachweisen. Die hR_f -Werte der als A 1 F und A 2 F bezeichneten Substanzen sowie deren UV-Spektren sind mit denen von Luteolin bzw. Apigenin identisch (s.Tab.16 und Tab.31,32 im Anhang, S.117 und S.125). Nach 7-stündigem Kochen mit Säure waren andere Aglyca nicht nachzuweisen.

β) Glycoside

Im flavonhaltigen Extrakt von *P. foetida* waren chromatographisch im System I fünf Flecke aufgetrennt, die nach Abb.9a als F 1 F, F 2 F, F 4 F, F 8 F und F 10 F bezeichnet wurden. Sie wurden durch präparative Dickschichtchromatographie isoliert und einzeln untersucht.

Flecke F 1 F ; F 8 F ; F 10 F

Die chromatographischen und spektroskopischen Daten von F 1 F stimmen mit Saponarin, die von F 8 F mit Orientin und die von F 10 F mit Vitexin überein (s.Tab.15,17,25,29 im Anhang, S. 116, 118, 122, 124).

Die Identität dieser Verbindungen ist somit gesichert.

Fleck F 4 F

Die Substanz F 4 F zeigt chromatographische und spektroskopische Übereinstimmung mit der Substanz F 4 D aus *P. decaisneana*, die von uns als Apigenin-8-C-diglucosid (Vitexinglucosid) identifiziert wurde (s.Tab.4, S. 25 und Tab.15 und 21 im Anhang, S.116 und S. 120).

Fleck F 2 F

Die in der Höhe der Diglycoside liegenden hR_f -Werte des Fleckes F 2 F in den Systemen I bis IV stimmen nicht mit denen bisher in *Passiflora*-Arten gefundener Flavonderivate überein (hR_f -Werte s.Tab.15 im Anhang, S. 116).

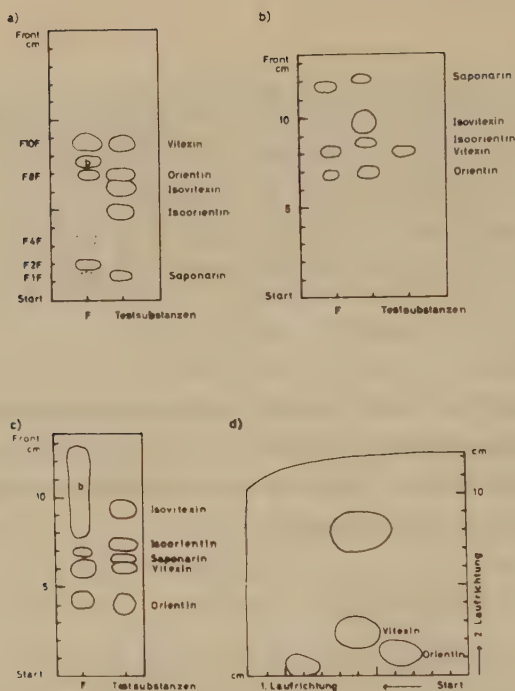


Abb. 9: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. foetida* (F).

- a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;
 b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;
 c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);
 d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 % (Co-Chromatographie mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen);
 Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz.

Als Hydrolyseprodukte wurden eindeutig Glucose und Vitexin analog den bei der Hydrolyse des Fleckes F 4 D und F 4 F aus *P. decaisneana* und *P. foetida* auftretenden Hydrolyseprodukten nachgewiesen. Das molare Verhältnis von Glucose zu Vitexin beträgt 1 : 1 (s. exp. Teil, S. 107).

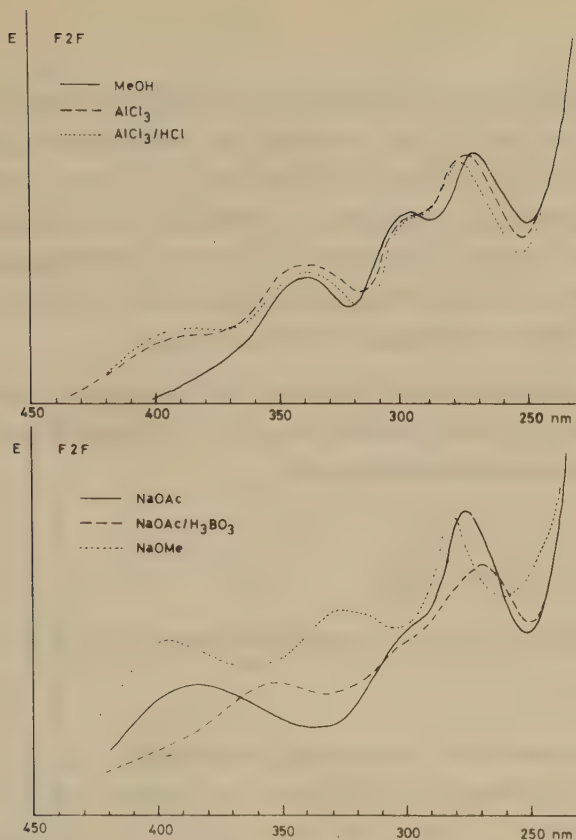


Abb. 10: UV-Spektren der Substanz F 2 F aus *P. foetida* in Methanol und nach Zusatz ionisierender und komplexbildender Reagentien.

Es lassen sich UV-spektroskopisch die im Vitexin frei vorliegenden Hydroxylgruppen in 5-, 7- und 4'-Stellung auch bei F 2 F als frei nachweisen, wie aus der Zusammenstellung der Verschiebungen der Maxima von F 2 F und Vitexin nach Zusatz verschiedener Reagentien hervorgeht (s. Tab. 4, S. 25; Absorptionsmaxima s. Tab. 18 im Anhang, S. 118).

Da die im Vitexin freien Hydroxylgruppen nach den spektrophotometrischen Analysen auch bei der Substanz F 2 F frei vorliegen, muß die Verknüpfung der Glucose ebenso wie bei den Substanzen F 4 D und F 4 F über den Glycosyl rest angenommen werden.

Es handelt sich demnach um ein weiteres Glycosid des bisher nicht aufgefundenen Typs von C-Glycosiden, bei dem ein zweiter - mit dem Glycosylrest identischer - Zucker über Sauerstoff am Glycosylrest gebunden ist (s.S. 20). Nach unseren spektroskopischen Untersuchungen stellt die Substanz F 2 F ein Apigenin-8-C-diglucosid dar. Die über C gebundenen Disaccharide der Verbindungen F 2 F einerseits und F 4 D bzw. F 4 F andererseits können jedoch nicht identisch sein, da diese Verbindungen differierende hRf-Werte aufweisen.

Zur Veranschaulichung sollen die wichtigsten chromatographischen und spektroskopischen Daten der neu aufgefundenen Apigenin-8-C- diglucoside und des Vitexins zusammengefaßt werden (s.Tab.4, S.25).

d) Passiflora warmingii

Über Flavonderivate in dieser Art liegen bisher keine Angaben in der Literatur vor.

α) Aglyca

In der Flavonfraktion von *P. warmingii* ließen sich freie Aglyca nicht nachweisen. Nach Hydrolyse durch 20 min Kochen mit Salzsäure 2 N war ein deutlicher Fleck zu sehen, der mit A 3 W bezeichnet wurde; die mit Kämpferol identischen hRf-Werte sind in Tab.16 im Anhang, S.117 , aufgeführt. Das Vorliegen einer freien Hydroxylgruppe in 3-Stellung bewirkt eine helle Fluoreszenz der Substanz A 3 W auf unbehandelten Chromatogrammen. Aus den Verschiebungen der UV-Spektren (s.Tab.33 im Anhang, S.126) läßt sich auf freie Hydroxylgruppen in 3-, 5-, 7- und 4'-Stellung schließen. Die Maxima der UV-Spektren sind mit denen von Kämpferol identisch.

Nach 7-stündiger Hydrolyse erschien ein zweiter, sehr viel schwächerer Fleck, der als A 2 W bezeichnet und chromatographisch und UV-spektroskopisch als Apigenin identifiziert wurde (analog Fleck A 2 I aus *P. incarnata*, S. 13).

β) Glycoside

Der angereicherte Flavonextrakt von *P. warmingii* wurde in den Systemen I bis IV chromatographiert (Abb.11) und die auftretenden Flecken nach Abb. 11 a als F 1 W, F 4 W, F 5 W, F 6 W, F 7 W, F 9 W und F 10 W bezeichnet.

Tabelle 4:

Chromatographische und spektroskopische Daten der Apigenin-8-C-diglucoside F 2 F, F 2 C, F 4 D, F 4 F und F 4 W sowie des Vitexins; sh = Schulter;
 System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Äthylacetat 9, Ameisensäure 1, Wasser 1;
 System IV: Adsorbens: Papier (zweidimensional); Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1;
 2.: Essigsäure 15 %.

Substanz	hRf-Werte		Absorptionsmaxima der methanol. Lösung [nm]	Verschiebungen der Maxima in nm nach Reagentien- zusatz zur methanolischen Lösung			
	System I	System IV		AlCl ₃ Bande I	AlCl ₃ /HCl Bande I	NaOAc Bande II	NaOMe Bande I
Vitexin	62	59/18	270	50	48	10	58
F 4 D	24	56/68	271	57	56	8	63
F 4 F	24	56/68	271	57	56	8	63
F 4 W	24	56/68	271	57	56	8	63
F 2 F	14	58/72	273	59	55	6	64
F 2 C	14	58/72	273	59	55	6	64

Sie wurden durch präparative Dickschichtchromatographie isoliert und einzeln untersucht. Während es sich bei den Flecken F 5 W und F 9 W um bisher in *Passiflora*-Arten nicht aufgefundene Flavonderivate handelt, wurden durch chromatographische und UV-spektroskopische Analysen die Verbindungen F 1 W als Saponarin, F 6 W als Isoorientin, F 7 W als Isovitexin und F 10 W als Vitexin identifiziert (s. Tab. 15, 17, 23, 24, 29 im Anhang, S. 116, 118, 121, 124).

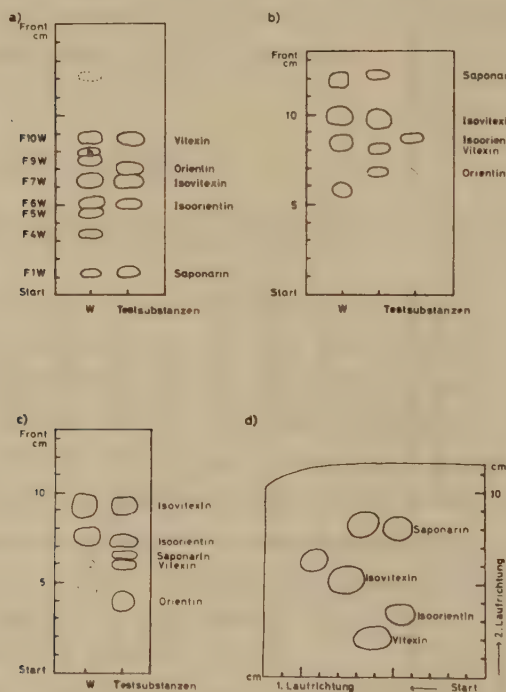


Abb. 11: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. warmingii* (= W).
a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;
b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;
c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);
d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 % (Co-Chromatographie mit entsprechenden Vergleichssubstanzen); Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reag. ; Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz.

Fleck F 4 W:

Die chromatographischen und spektroskopischen Daten des Fleckes F 4 W stimmen mit denen des als Apigenin-8-C-diglucosid identifizierten Fleckes F 4 D aus *P. decaisneana* überein. Das Vorkommen dieses C-gebundenen Disaccharids wird somit für eine weitere *Passiflora*-Art aufgezeigt.

Flecken F 5 W und F 9 W:

Die chromatographischen und spektroskopischen Daten der Substanzen F 5 W und F 9 W sind in den Tab. 15, 22 und 26 im Anhang, S. 116, 120 und 122 aufgeführt.

Abb. 12 zeigt die UV-Spektren der Substanz F 5 W; die Spektren der Substanz F 9 W sind hiermit nahezu identisch und werden nicht gesondert abgebildet.

Nach 20 min Kochen mit verdünnter Salzsäure ließ sich bei beiden Substanzen je ein Aglycon isolieren; diese Aglyca waren chromatographisch und UV-spektroskopisch identisch. Sie wurden analog Fleck A 3 W eindeutig als Kämpferol identifiziert.

Die Analyse der Zucker war in Folge der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmengen schwierig. Nach Hydrolyse konnten wir papierchromatographisch von beiden Substanzen jeweils nur einen Fleck nachweisen. Die Zuckerkomponenten beider Glycoside waren papierchromatographisch identisch und verhielten sich im Chromatogramm ähnlich wie Glucose. Bei der hydrolytischen Spaltung der Substanz F 5 W wurde etwa die zweifache molare Zuckermenge frei, die durch Hydrolyse der Substanz F 9 W entstand, wie aus densitometrischen Messungen der vom Papierchromatogramm eluierten Flecken hervorgeht (s.exp. Teil, S. 107). Die in den verschiedenen chromatographischen Systemen ermittelten R_f -Werte der beiden Glycoside deuten ebenfalls darauf hin, daß es sich bei F 5 W um ein Biosid und bei F 9 W um ein Monosid handelt.

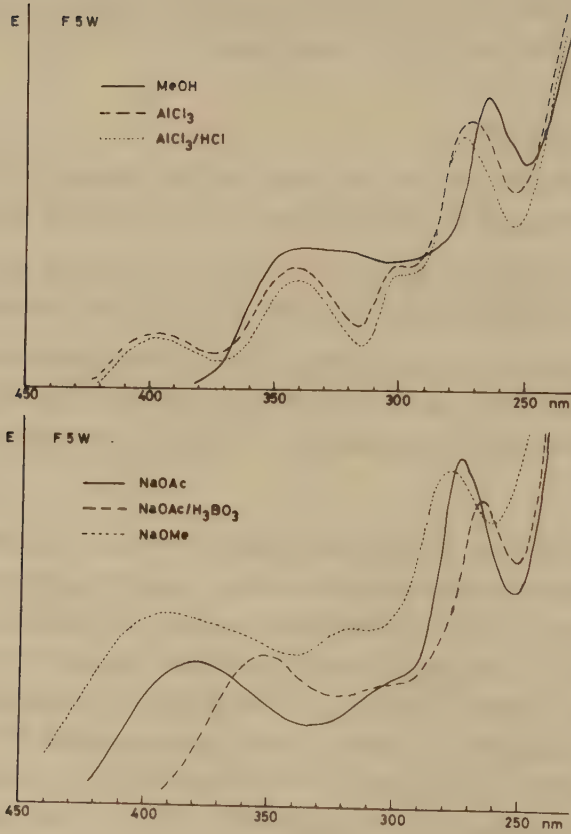


Abb. 12: UV-Spektren der Substanz F 5 W aus *P. warmingii* in Methanol und nach Zusatz ionisierender und komplexbildender Reagentien.

Um die Frage der Verknüpfung der Zucker am Aglycon zu untersuchen, wurden die Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren nach Zusatz ionisierender und komplexbildender Reagentien ausgewertet (Tab.5).

Tabelle 5: Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren der Substanzen F 5 W, F 9 W und Kämpferol.

	Bathochrome Verschiebungen der Maxima in nm nach Reagentienzusatz zur methanolischen Lösung			
	AlCl ₃ Bande I	AlCl ₃ /HCl Bande I	NaOAc Bande II	NaOMe Bande I
Kämpferol	57	57	8	49
F 5 W	53	53	9	52
F 9 W	54	53	8	52

Die Substanzen F 5 W und F 9 W zeigten nahezu identische Verschiebungen, so daß angenommen werden kann, daß bei beiden die OH-Gruppe am selben C-Atom substituiert ist. Mit Natriumacetat und Natriummethylat lassen sich eindeutig freie Hydroxylgruppen in 7- bzw. 4'-Stellung nachweisen. Die säurestabile Verschiebung mit Aluminiumchlorid deutet auf eine freie OH-Gruppe am C-Atom 5, während sich die im Kämpferol freie OH-Gruppe in 3-Stellung nicht nachweisen läßt. Dies deutet, wie auch die Fluoreszenzfarben auf unbehandelten Chromatogrammen (dunkel; nach Hydrolyse hellgelb) darauf, daß es sich bei den Substanzen F 5 W und F 9 W um ein Kämpferol-3-biosid bzw. ein Kämpferol-3-monosid handelt.

Wie aus einem Vergleich der hRf-Werte und der UV-Spektren hervorgeht, ist das von uns isolierte Kämpferol-3-monosid nicht mit Astragalin (Kämpferol-3-glucosid) identisch (Tab.15 und 26 im Anhang, S.116 und S.122). Dazu sei bemerkt, daß W.POETHKE u. Mitarb. (1970 b) aus einer von uns nicht untersuchten Passiflora-Art (*P. bryonoides*) ebenfalls zwei O-Glycoside des Kämpferols isolierten. Auch hier gelang es nicht, die Zuckerkomponente zu identifizieren. (Es wurde in einem Versuch papierchromatographisch ein schwacher Fleck mit dem hRf-Wert der Glucose nachgewiesen .)

Die Autoren stellten lediglich fest, daß es sich um zwei Kämpferol-3-bioside handelte, die nicht mit bekannten Kämpferolglycosiden identisch waren. Somit wäre es denkbar, daß es sich bei einem der von W. POETHKE u. Mitarb. (1970 b) beschriebenen Kämpferol-3-bioside um die Substanz F 5 W handelt, die wir aus *P. warmingii* isolieren konnten.

Die Tatsache, daß sowohl von W. POETHKE u. Mitarb. (1970 b) als auch von uns einerseits im Hydrolysat ein Zucker mit ähnlichem chromatographischen Verhalten wie Glucose nachgewiesen wurde, andererseits jedoch Identifizierungsversuche der Glycoside mit bekannten Kämpferol-3-glycosiden (z.B. F 9 W mit Astragalin) nicht gelangen, könnte bedeuten, daß auch bei den Flavonoiden seltene Zucker vorkommen, wie sie bei anderen glycosidischen Naturstoffen bereits nachgewiesen wurden. Eingehendere Untersuchungen konnten aus Substanzmangel nicht durchgeführt werden und bleiben weiteren Arbeiten vorbehalten.

e) Passiflora coerulea

In der Flavonfraktion aus *P. coerulea*, die bisher nicht untersucht worden ist, ließen sich auch nach einstündigem Kochen mit Salzsäure Aglyca nicht nachweisen. Mit den hier angewendeten Analysemethoden wurden sechs Flavonglycoside getrennt, die entsprechend Abb. 13a mit F 1 C, F 2 C, F 3 C, F 6 C, F 7 C und F 10 C bezeichnet wurden. Hiervon erwies sich der Fleck F 1 C als Saponarin, der Fleck F 6 C als Isoorientin, während es sich bei den Flecken F 6 C, F 7 C und F 10 C um Isovitexin und Vitexin handelt (Identifizierung s. bei *P. incarnata*).

Fleck F 2 C:

Die chromatographische und spektroskopische Untersuchung mittels der angewendeten Standardmethoden ergab, daß es sich bei der Substanz F 2 C um das von uns in *P. foetida* aufgefundene Apigenin-8-C- diglucosid handelt (s. Tab. 4, S. 25). Das Vorkommen dieses C-Disaccharids wird damit in einer zweiten *Passiflora*-Art beschrieben.

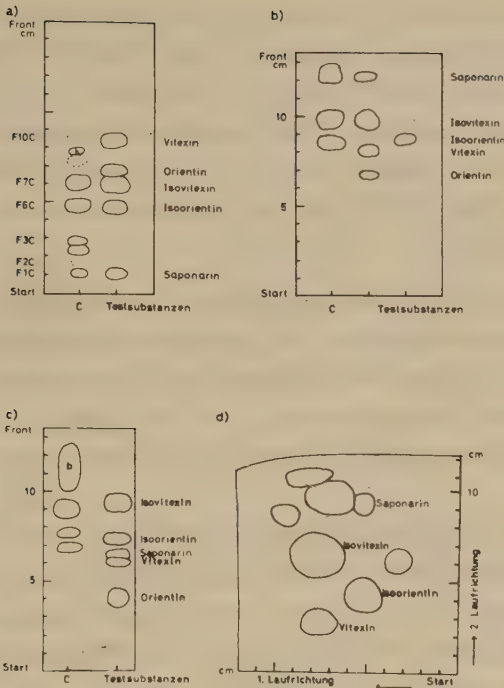


Abb. 13: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. coerulea* (=C).

a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;

b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;

c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);

d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 % (Co-Chromatographie mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen); Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reag. Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz.

Fleck F 3 C:

Bei der Substanz F 3 C handelt es sich offensichtlich um ein Flavonglycosid, das bisher bei den Analysen der *Passiflora*-Extrakte noch nicht aufgetreten ist. Das chromatographische Verhalten deutet auf das Vorliegen eines Diglycosides (hRF-Werte in den Standardlaufmitteln sind in Tab. 15 im Anhang, S. 116 aufgeführt).

Die Fluoreszenzfarbe ist auf unbehandelten Chromatogrammen dunkel und nach Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz (s.exp.Teil, S.96) dunkelgelb. Der Reduktionstest nach J.SHINODA (1928) verläuft negativ (Probe wird gelb). Die isolierte Substanz ist gelblich. Diese Beobachtungen lassen auf ein Flavanon, Dihydroflavanol oder Isoflavon schließen (bei den beiden erstgenannten Verbindungsklassen sollte nach H.SAUER, 1967, der SHINODA-Test positiv verlaufen, sofern Ring B substituiert ist).

Nach Hydrolyse durch einstündiges Kochen mit Salzsäure wurde Rhamnose als Zuckerkomponente nachgewiesen. Der nicht weiter hydrolysierbare Teil der Verbindung F 3 C wurde mit AF 3 C bezeichnet; er wurde in den Glycosid-Standardlaufmitteln I bis IV chromatographiert (Tab.15 im Anhang, S.116). Die hierbei auftretenden R_f -Werte könnten auf das Vorliegen eines C-Glycosids hinweisen.

Die UV-spektroskopische Untersuchung des Hydrolysats AF 3 C bestätigt die Vermutung, daß es sich nicht um ein Flavon oder Flavonol handelt (s.Abb.14 und Tab.20 im Anhang, S.119). An Stelle der für diese Verbindungen typischen Absorptionsmaxima treten eine intensive Bande II bei 272 nm und eine geringere Bande I bei 316 nm auf. Nach T.J.MABRY u.Mitarb. (1970) läßt sich aus den relativ geringen Verschiebungen nach Zusatz von Natriumacetat und Aluminiumchlorid/Salzsäure auf das Vorliegen eines Isoflavons schließen (die Verschiebungen bei Flavanonen und Dihydroflavonolen sind wesentlich größer; s.Tab.6). Die Intensität der Bande II nimmt nach Zusatz von Natriummethylat nicht zu, wie es für Flavone, Flavanone und Dihydroflavonole typisch wäre, so daß nach T.J.MABRY u.Mitarb. (1970) ein Isoflavon vorliegen dürfte. Unter der Annahme eines Isoflavon-Grundkörpers lassen sich aus den Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren folgende Strukturhinweise erhalten:

Die nach Zusatz von Natriumacetat eintretende Verschiebung der Bande II um 5 nm deutet auf eine freie Hydroxygruppe in 7-Stellung hin. Da sich keine o-Dihydroxygruppen nachweisen lassen (geringe Verschiebungen mit $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ und mit AlCl_3 ; keine Intensitätsänderung nach Zusatz von Natriummethylat), können in 6- und 8-Stellung keine Hydroxygruppen sowie in 3'-4'-Stellung keine Dihydroxygruppierung vorhanden sein.

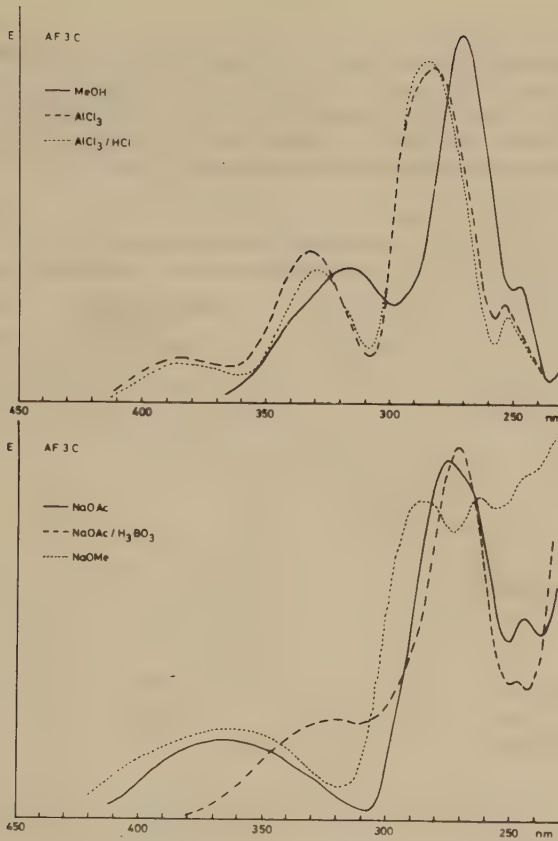


Abb. 14: UV-Spektren der Substanz AF 3 C aus *P. coerulea* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

Bande II wird durch Zusatz von Aluminiumchlorid/Salzsäure bathochrom um 14 nm verschoben, was auf eine freie Hydroxygruppe in 5-Stellung zurückzuführen ist. Beim Hydrolysat AF 3 C könnte es sich somit um ein Isoflavon mit freien OH-Gruppen in 5- und 7-Stellung handeln.

Das Glycosid F 3 C zeigt bis auf die mit AlCl₃ eintretenden Verschiebungen nahezu die gleichen Spektren wie das Hydrolyseprodukt AF 3 C (s. Abb. 15, Tab. 6, S. 34 und Tab. 19 im Anhang, S. 119). Mit AlCl₃/HCl tritt nur eine sehr geringe Verschiebung der Bande II um 2 nm ein; die im Hydrolysat als frei nachgewiesene OH-Gruppe in 5-Stellung muß deshalb im Glycosid substituiert sein.

Tabelle 6: Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren, die bei den Substanzen AF 3 C und F 3 C aus *P. coerulea* und der Substanz A 5 E aus *P. edulis* nach Zusatz verschiedener Reagentien eingetreten sind, und die Werte, die nach T.J.MABRY u. Mitarb. (1970) bei Vorliegen von Isoflavonen und Dihydroflavonolen bzw. Flavanonen eintreten sollen.

Substanz	Bathochrome Verschiebungen der Maxima in nm nach Reagentienzusatz zur methanolischen Lösung		
	NaOAc	NaOAc/H ₃ BO ₃	AlCl ₃ /HCl
	Bande II	Bande I	Bande II
AF 3 C	5	6	14
F 3 C	6	2	2
A 5 E	8	4	12
Isoflavon mit 7-OH	6-20	-	-
- mit o-Dihydroxygruppen im Ring A	-	10-15	-
- mit 5-OH	-	-	10-14
- Dihydroxyflavonol und Flavanon mit 5-, 7-OH und o-Dihydroxygruppen im Ring A	34-37	10-15	20-26

Bei F 3 C handelt es sich um eine bisher nicht in *Passiflora*-Arten aufgefundene Substanz. Die nach T.J.MABRY u. Mitarb. (1970) vorgenommene Auswertung der UV-Spektren läßt einen Isoflavon-Grundkörper vermuten, bei dem eine Hydroxylgruppe in 7-Stellung frei und eine weitere in 5-Stellung mit Rhamnose glycosidisch verknüpft ist. Das chromatographische Verhalten des Hydrolysats läßt auf ein C-Glycosid schließen. Isoflavon-C-Glycoside sind in der Natur bisher selten aufgefunden worden (F.WONG, 1970); sie wurden z.B. in *Pueraria*-Arten beschrieben (S.P.BHUTANI u. Mitarb, 1969 und T.MURAKAMI, 1960). Neben dieser für *Passiflora*-Arten neuen Substanz wurden Saponarin, Isoorientin, Isovitexin, Vitexin und das in *P. foetida* vorkommende Apigenin-8-C-diglucosid identifiziert.

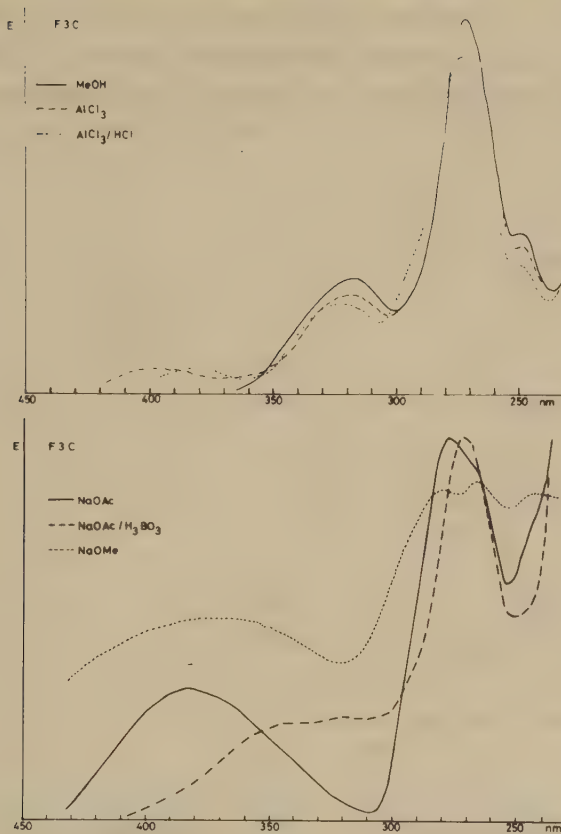


Abb.15: UV-Spektren der Substanz F 3 C aus *P.coerulea* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

f) Passiflora edulis

Untersuchungen über die Flavonoidführungen von *P.edulis* liegen bislang nicht vor.

α) Aglyca

Abb.16 zeigt die in der Flavon-Fraktion von *P.edulis* enthaltenen freien Aglyca, die mit A 1 E und A 2 E bezeichnet und mit den hier angewendeten Analysenmethoden als Apigenin und Luteolin identifiziert wurden.

Aus der unterhalb von A 1 E liegenden, ebenfalls mit Bor-Oxalsäure reagierenden Zone konnte kein scharf umgrenzter Fleck isoliert werden. Die mit A 5 E bezeichnete Substanz trat erst nach Hydrolyse des angereicherten Extraktes auf.

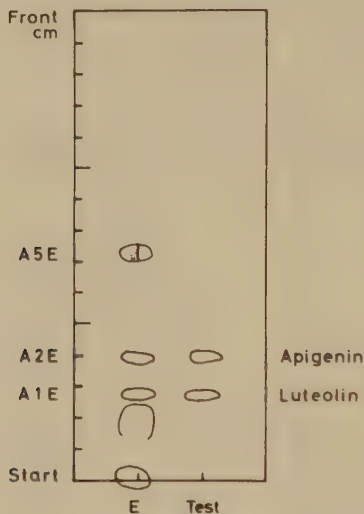


Abb. 16: Dünnschichtchromatogramm der Aglyca des angereicherten hydrolysierten Flavonextraktes von *P. edulis* (=E).
Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Cyclohexan 35, Dichlormethan 30, Äthylformiat 30, Ameisensäure 5;
Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; d = dunkelgrüne Fluoreszenz.

Fleck A 5 E :

Die durch Reaktion mit Bor-Oxalsäure auftretende dunkelgelbe Fluoreszenz, der negativ ausfallende SHINODA-Test sowie vor allem die UV-Spektren (Abb. 17 und Tab. 35 im Anhang, S. 127) lassen analog der Auswertung des Fleckes AF 3 C von *P. coerulea* das Vorliegen eines Isoflavons vermuten. Die mit AF 3 C nahezu identischen Verschiebungen (s. Tab. 6, S. 34) deuten auf freie OH-Gruppen in 5- und 7-Stellung hin. (Auswertung der UV-Spektren s. bei Fleck AF 3 C, S. 32 ; chromatographische Daten s. Tab. 16 im Anhang, S. 117).

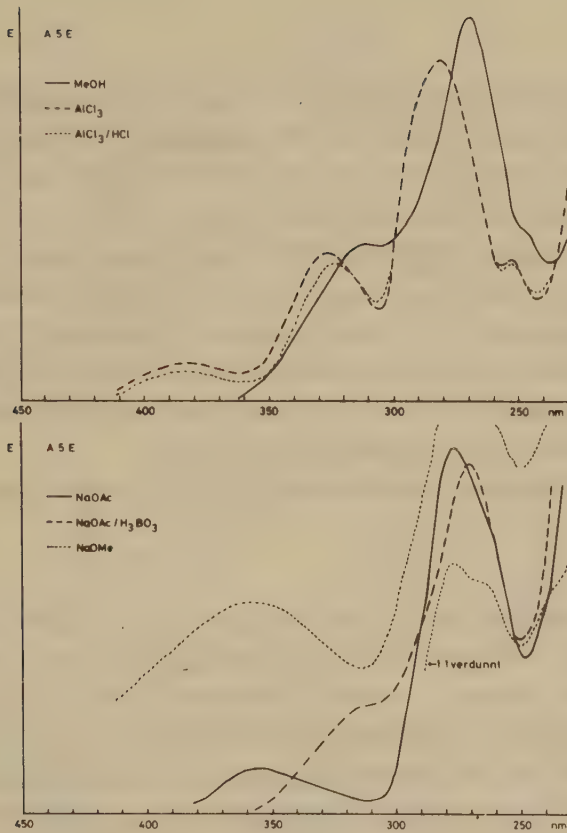


Abb. 17: UV-Spektren der Substanz A 5 E aus *P. edulis* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

Nach den Angaben über die Deutung von UV-Spektren bei T. J. MABRY u. Mitarb. (1970) dürfte es sich bei der Substanz A 5 E um ein durch Hydrolyse entstandenes Isoflavon-Aglycon mit freien OH-Gruppen in 5- und 7-Stellung handeln, bei dem in 6- und 8-Stellung keine Hydroxygruppen sowie kein 3', 4'-Dihydroxysystem vorliegen.

Isoflavone können wegen ihres seltenen Vorkommens ein chemotaxonomisch wichtiges Merkmal darstellen; sie sind bisher vorwiegend in Leguminosen-Arten gefunden worden (J. B. HARBORNE, 1967 a). Über das Vorkommen von Isoflavonen in *Passiflora*-Arten liegen bisher keine Hinweise in der Literatur vor.

β) Glykoside

Die Auftrennung des flavonhaltigen Extraktes von *P. edulis* in den Systemen I bis IV gelang nur unvollständig, wie aus Abb. 18 hervorgeht. Auch nach weiteren Variationen der Fließmittel ließen sich innerhalb der Laufspur keine scharfen Flecken erkennen und isolieren, mit Ausnahme der nach Abb. 18 a als F 9 E, F 10 E und des sehr schwachen Fleckes F 11 E bezeichneten Flecken. Durch Hydrolyseversuche auf der Platte (Ansprühen mit 5 N HCl, anschließendem Erhitzen und Chromatographieren in Aglyca-Laufmitteln) konnte lediglich festgestellt werden, daß der in Abb. 18 a wegen seiner nach Ansprühen mit Bor-Oxalsäure dunkelgelben Fluoreszenzfarbe mit d bezeichnete Fleck das Glycosid des Fleckes A 5 E zu sein scheint. Eine Isolierung gelang jedoch nicht.

Der mit F 10 E bezeichnete Fleck wurde nach Isolierung als Vitexin identifiziert.

Fleck F 9 E:

Die chromatographischen Daten der nach präparativer Dickschichtchromatographie isolierten Substanz F 9 E sind in Tab. 15 im Anhang, S. 116 zusammengestellt. Abb. 19 zeigt die UV-Spektren, während die Absorptionsmaxima in Tab. 27 im Anhang, S. 123 aufgeführt sind. Nach Hydrolyse wurde Glucose papierchromatographisch nachgewiesen. Das auftretende Aglycon wurde chromatographisch (Tab. 15 im Anhang, S. 116) und UV-spektroskopisch (Abb. 20, S. 41 und Tab. 28 im Anhang, S. 123) untersucht.

Im Aglycon und Glycosid lassen sich durch die Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren nach Zusatz von Natriummetholat und Aluminiumacetat freie Hydroxylgruppen in 4'- und 5-Stellung nachweisen. Mit Natriumacetat tritt weder beim Glycosid noch beim Hydrolysat eine Verschiebung ein, so daß die OH-Gruppe in 7-Stellung des Glycosids und Aglycons substituiert sein dürfte. o-Dihydroxygruppen können wegen der Säurestabilität der Aluminiumkomplexe ausgeschlossen werden. Die eingetretenen Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren von F 9 W und AF 9 W sind in Tab. 7, S. 44 zusammengestellt.

Bei der Substanz F 9 E dürfte es sich demnach um ein Flavon-O-glucosid mit freien Hydroxylgruppen in 5- und 4'-Stellung handeln, während eine freie Hydroxylgruppe in 7-Stellung nicht nachweisbar war; sie dürfte jedoch nicht durch einen Zucker substituiert sein.

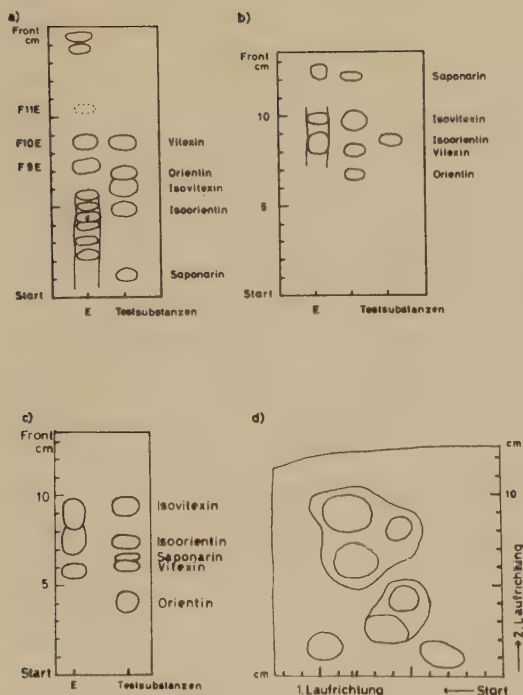


Abb. 18: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. edulis* (= F).
a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;
b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;
c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);
d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 %;
 Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; b = blaue Fluoreszenz; d = dunkelgelbe Fluoreszenz.

Weitere Angaben über die Struktur und die Verknüpfung von Zucker und Aglycon können auf Grund der UV-Spektren und der durchgeführten chromatographischen Untersuchungen nicht gemacht werden.

Die in dem Flavonkomplex von *P. edulis* enthaltenen Substanzen konnten mit den angewendeten Methoden nur unvollkommen chromatographisch aufgetrennt werden. Es wurden zwei Substanzen isoliert, von denen eine durch ihre chromatographischen und UV-spektroskopischen Daten charakterisiert und die andere als Vitexin identifiziert wurde.

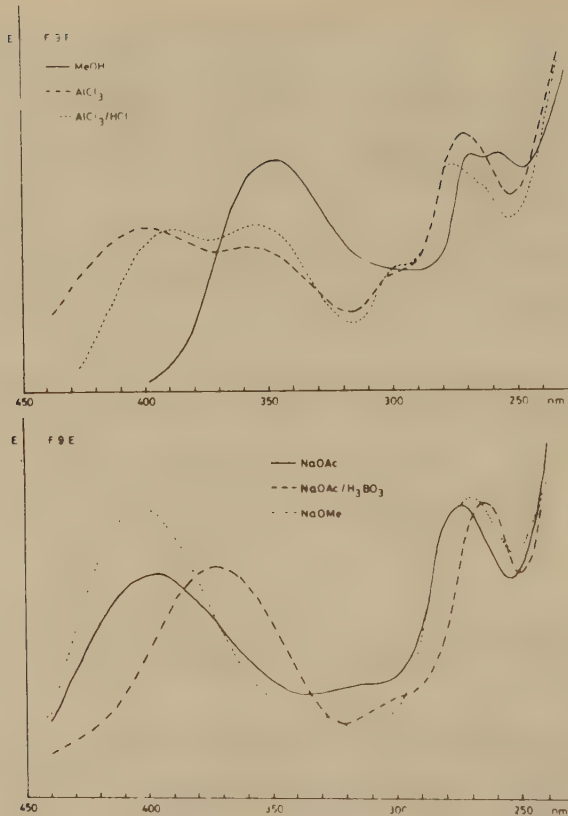


Abb. 19: UV-Spektren der Substanz F 9 E aus *P. edulis* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

g) Passiflora subpeltata

α) Aglyca

In der Flavonoidfraktion von *P. subpeltata* waren freie Aglyca vorhanden, die nach Säurehydrolyse verstärkt auftraten; es traten jedoch keine neuen Flecke auf. Die mit A 1 S und A 2 S bezeichneten Flecken (s. Abb. 21, S. 42) erwiesen sich nach dünnschichtchromatographischer und UV-spektroskopischer Prüfung als Luteolin bzw. Apigenin (hRf-Werte und Maxima der UV-Spektren s. Tab. 16 und Tab. 31, 32 im Anhang, S. 117, 125).

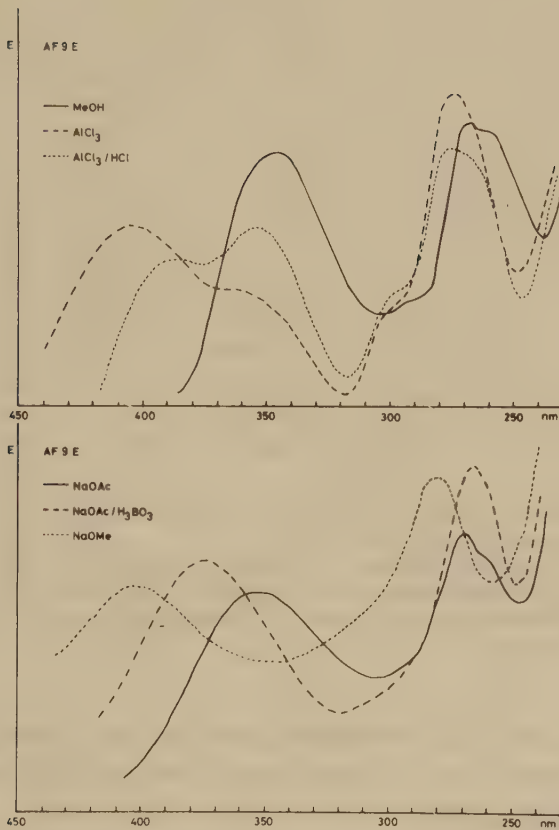


Abb.20: UV-Spektren des Aglycons AF 9 E aus *P. edulis* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

Fleck A 4 S:

Die R_f -Werte dieses auf unbehandelten Chromatogrammen hellgelb fluoreszierenden Fleckes in den Systemen V bis VII sind in Tab.16 im Anhang, S.117 zusammengestellt. Es handelt sich offensichtlich um ein Flavon, das bisher nicht in *Passiflora*-Arten aufgefunden wurde. Die Substanz wurde durch die Aufnahme von UV-Spektren charakterisiert (Abb.22, S.43; Absorptionsmaxima in Tab.34 im Anhang, S.126).

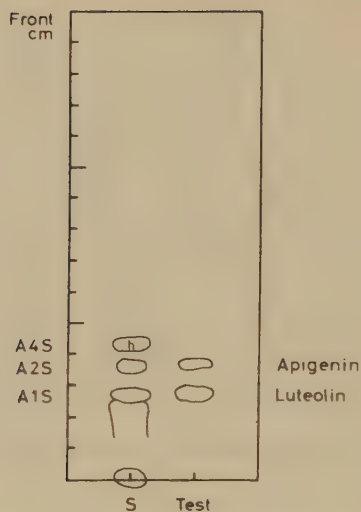


Abb. 21: Dünnschichtchromatogramm der freien Aglyca des angereicherten Flavon-extraktes von *P. subpeltata* (=S).
Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Cyclohexan 35, Dichlormethan 30, Äthylformiat 30, Ameisensäure 5; Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; h = hellgelbe Fluoreszenz ohne Ansprühen sichtbar.

Die Verschiebungen nach Zusatz von Reagentien sind in der Tab. 7, S. 44, zusammen mit den nach T. J. MABRY u. Mitarb. (1970) für bestimmte Hydroxygruppen zu erwartenden Verschiebungen aufgeführt.

Aus den in Tab. 7 zusammengestellten bathochromen Verschiebungen geht hervor, daß bei der Substanz A 4 S keine freie OH-Gruppe in 7-Stellung vorzuliegen scheint, während im B-Ring o-Dihydroxygruppen und im A-Ring Hydroxygruppen in 5- und 3-Stellung angenommen werden müssen (die OH-Gruppe in 3-Stellung wird durch die helle Fluoreszenzfarbe ohne Ansprühen der Substanz bestätigt). Die leichte Schulter der Bande I bei 428 nm nach Zusatz von NaOAc zeigt das Vorhandensein einer freien Hydroxygruppe in 4'-Stellung an. Nach den Auswertungen der UV-Spektren könnte es sich bei der Substanz A 4 S um ein 5-, 4'-Dihydroxyflavonol handeln, bei dem die OH-Gruppe in 7-Stellung substituiert ist.

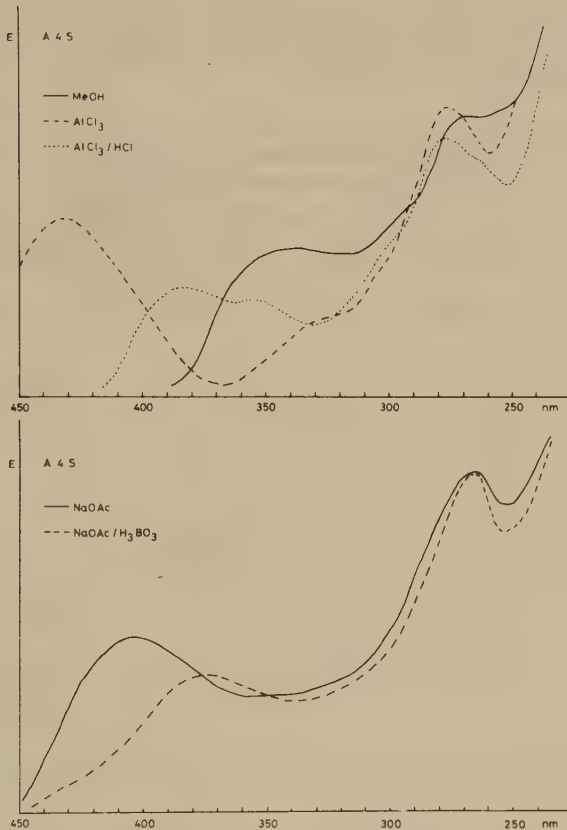


Abb. 22: UV-Spektren der Substanz A 4 S aus *P. subpeltata* in Methanol und nach Zusatz verschiedener Reagentien.

β) Glycoside

Der Flavonkomplex von *P. subpeltata* trennte sich in den Glycosid-Laufmitteln I bis IV nur unvollständig auf (s. Abb. 23, S. 45). In der Laufspur ließen sich Konzentrationsunterschiede feststellen; es gelang jedoch nicht, außer dem Fleck F 11 S andere Substanzen zu isolieren.

Tabelle 7: Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren, die bei den Substanzen A 4 S und F 11 S aus *P. subpeltata* und F 9 E und AF 9 E aus *P. edulis* nach Zusatz verschiedener Reagentien eingetreten sind, und die Werte, die nach T.J. MABRY (1970) für Flavone mit bestimmten Hydroxylgruppen zu erwarten sind.

Substanz	Bathochrome Verschiebungen der Maxima in nm nach Reagenzienzusatz zur methanolischen Lösung				
	NaOAc Bande II	NaOAc/H ₃ BO ₃ Bande I	AlCl ₃ relativ zu AlCl ₃ /HCl Bande I	AlCl ₃ /HCl Bande I	NaOMe Bande I
A 4 S	0	38	48	48	-
F 11 S	4	5	6	46	46
F 9 E	2	26	10	42	55
AF 9 E	0	26	16	39	57
Flavon mit 7-OH	5-20	-	-	-	-
- o-Dihydroxygr.	-	12-30	30-46	-	-
- 4'- oder 3-OH	-	-	-	-	40-65
- 5-OH	-	-	-	35-55	-
- 3, 5-Di-OH	-	-	-	49-62	-

Fleck F 11 S:

Die chromatographischen und spektroskopischen Daten zur Charakterisierung der Substanz F 11 S sind in den Tab. 15 und 30 im Anhang, S. 116 und S. 124 zusammengestellt. Die Abb. 24 zeigt die UV-Spektren dieser Substanz in Methanol und nach Zusatz verschiedener Reagentien.

Nach Glycosid-Spaltung wurden Rhamnose und Luteolin mit den bekannten Standardmethoden identifiziert. Die glycosidische Bindung kann über die Hydroxylgruppen des Luteolins in 5-, 7-, 3'- oder 4'-Stellung erfolgen. Aus Tab. 7 geht hervor, daß sich durch die Verschiebungen der Maxima der UV-Spektren des Glycosids F 11 S OH-Gruppen in 5-, 7- und 4'-Stellung als frei nachweisen lassen.

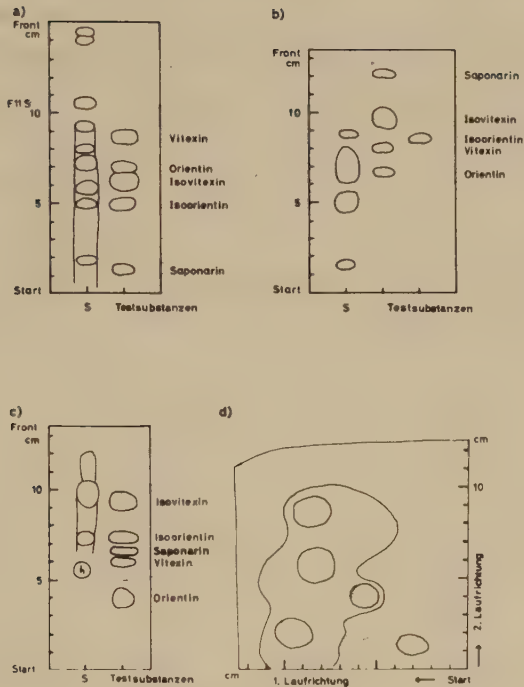


Abb. 23: Chromatographie des flavonhaltigen Extraktes von *P. subpeltata* (= S).

a = System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;

b = System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;

c = System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);

d = System IV: Adsorbens: Papier; Fließmittel: 1.: t-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15 %; Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; Flecken erscheinen gelb; h = helle Fluoreszenz ohne Ansprühen sichtbar.

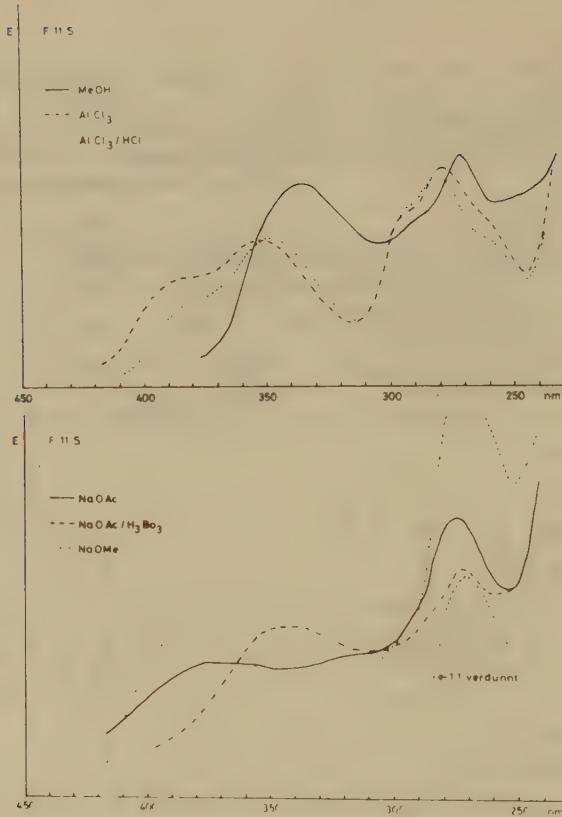


Abb.24: UV-Spektren der Substanz F 11 S aus *P. subpeltata* in Methanol und nach Zusatz komplexbildender und ionisierender Reagentien.

Da weiterhin im Glycosid weder mit Borsäure noch mit Aluminiumchlorid o-Dihydroxygruppen aufzuzeigen sind, muß die Verknüpfung der Rhamnose mit Luteolin in 3'-Stellung angenommen werden. Ein ähnliches ungewöhnliches Glycosid des Luteolins wurde von V.I. LITVINENKO u. T.A. SERGIENKO (1965) in den Blättern von *Dracocephalum thymiflorum* aufgefunden (Luteolin-3'-glucosid).

In dem nur unvollständig aufgetrennten Flavonextrakt von *P. subpeltata* ließen sich neben den bekannten Aglyca Luteolin und Apigenin ein weiteres, für die Gattung *Passiflora* neues Aglycon (evtl. ein 5-, 4'-Dihydroxyflavonol mit Substitution in 7-Stellung) sowie ein ebenfalls bisher nicht in *Passiflora*-Arten nachgewiesenes O-Glycosid (wahrscheinlich Luteolin-3'-rhamnosid) nachweisen.

3) Zusammenfassung der qualitativen Ergebnisse

Eine befriedigende chromatographische Auftrennung der Flavonkomplexe war bei *P. incarnata*, *P. decaisneana*, *P. foetida*, *P. warmingii* und *P. coerulea* möglich. Als am besten geeignete Adsorbienten erwiesen sich Kieselgel und Papier (zweidimensional). Bei *P. subpeltata* und *P. edulis* gelang die chromatographische Auftrennung nur unvollständig. Hier konnten nur zwei bzw. drei Substanzen isoliert werden. Eine Übersicht über die chromatographische Trennung der Flavonglycoside der untersuchten *Passiflora*-Arten gibt die Abb. 25. Die relativen Mengen der auftretenden Flecken wurden durch Kreuze angedeutet.

Bisher sind in *Passiflora*-Arten (Untersuchungen liegen vor von *P. incarnata*, *P. bryonoides*, *P. pulchella* und *P. quadrangularis*) vorwiegend C-Glycoside des Apigenins und Luteolins gefunden worden (W. POETHKE u. Mitarb., 1970 b; H. SCHILCHER, 1968; B. GLOTZBACH u. H. RIMPLER, 1968). In *P. bryonoides* wurden O-Glycoside des Apigenins und Kämpferols nachgewiesen (W. POETHKE u. Mitarb., 1970 b).

Unsere Untersuchungen bestätigen diese Befunde. In Übereinstimmung mit den Autoren konnten auch wir nur eine geringe Menge freier Aglyca nachweisen. Neu in *Passiflora*-Arten wurden von uns zwei Vitexinglucoside (Apigenin-8-C-diglucoside) identifiziert. Bei beiden Vitexinglucosiden ist die Glucose über den Glycosylrest mit Vitexin verknüpft; da sich beide Glucoside jedoch chromatographisch gut voneinander trennen, muß die Verknüpfung jeweils verschiedenartig sein. Wegen Substanzmangel konnte diese Frage nicht geklärt werden. Die Apigenin-8-C-diglucoside wurden in *P. foetida* und *P. coerulea* einerseits und in *P. decaisneana*, *P. foetida* und *P. warmingii* andererseits nachgewiesen.

In *P. warmingii* wurden zwei O-Glycoside des Kämpferols aufgefunden. Nach unseren Untersuchungen handelt es sich um Kämpferol-3-monosid und Kämpferol-3-biosid. Weiterhin wurde erstmals in *Passiflora*-Arten ein O-Glycosid des Luteolins nachgewiesen. Es handelt sich um ein bei *P. subpeltata* vorkommendes Luteolin-O-rhamnosid (eine Verknüpfung über das C-Atom 3' wurde wahrscheinlich gemacht).

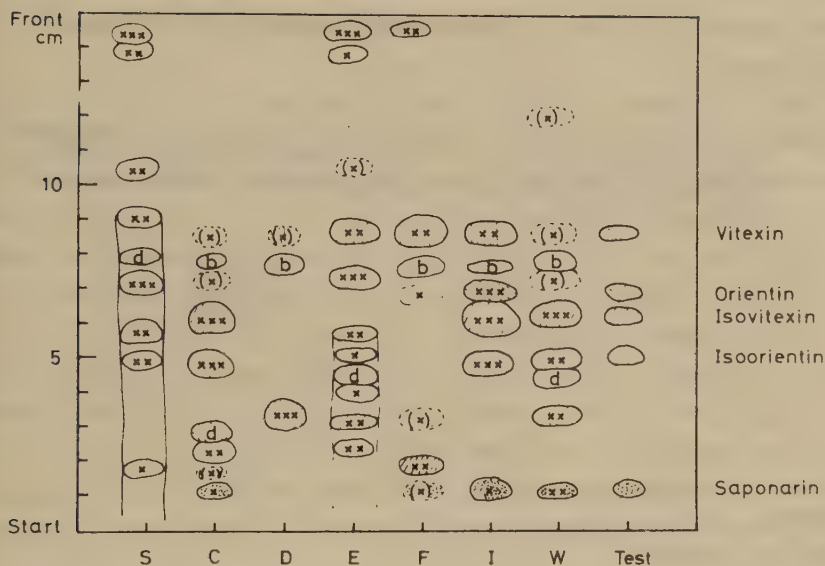


Abb. 25: Dünnschichtchromatogramm der Flavonkomplexe von *P. subpeltata* (=S), *P. coerulea* (=C), *P. decaisneana* (=D), *P. edulis* (=E), *P. foetida* (=F), *P. incarnata* (=I) und *P. warmingii* (=W). Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Äthylacetat 9, Ameisensäure 1, Wasser 1; Detektion durch Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Reagenz; d = dunkelgelbe Fluoreszenz; xx = relative Intensitäten der hellgelb fluoreszierenden Flecken.

Neben diesen Substanzen wurden einige weitere Flecke durch ihre chromatographischen und spektroskopischen Daten charakterisiert. Sie konnten wegen Substanzmangel nicht eindeutig identifiziert werden. Es handelt sich hierbei um den bei *P. subpeltata* auftretenden Fleck A 4 S, um die bei *P. edulis* auftretenden Flecken A 5 E und F 9 E und um den bei *P. coerulea* auftretenden Fleck F 3 C. Fleck A 4 S scheint nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen ein Flavonol und Fleck F 9 E ein Flavonglucosid ohne freie OH-Gruppen in 7-Stellung zu sein, während es sich bei dem Aglycon A 5 E und dem C-Glycosid F 3 C nach den Verschiebungen der UV-Spektren um Isoflavone handeln könnte. Zum ersten Mal wird damit das Vorkommen von substituierten Flavonen und Isoflavonen in *Passiflora*-Arten wahrscheinlich gemacht.

In Tab.8 sind alle in *Passiflora*-Arten aufgefundenen Flavonderivate zusammen-
gestellt worden.

Tabelle 8: Zusammenstellung der in nichthydrolysierten *Passiflora*-Extrakten
nachgewiesenen Flavonderivate. Die mit den Bezeichnungen der Flecken
der Dünnschichtchromatogramme gekennzeichneten Verbindungen sind
neu für *Passiflora*-Arten.

	<i>P. incarnata</i>	<i>P. decaisneana</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. warmingii</i>	<i>P. coerulea</i>	<i>P. subpeltata</i>	<i>P. edulis</i>	<i>P. bryonoides</i> ¹⁾	<i>P. pulchella</i> ²⁾	<i>P. quadrangularis</i> ²⁾
Apigenin			+			+				
Apigenin-7-O-glucosid								+		
Vitexin	+	+	+	+	+		+	+	+	+
Isovitexin	+			+	+			+	+	+
Saponarin	+		+	+	+				+	+
F 2 (Apigenin-8-C- diglucosid)			+		+					
F 4 (Apigenin-8-C-diglucosid)		+	+	+						
Luteolin			+			+				
Orientin	+		+		+					
Isoorientin	+			+	+				+	
F 11 S (Luteolin-O-rhamnosid)						+				
F 9 W (Kämpferol-3-monosid)				+						
F 5 W (Kämpferol-3-biosid)				+						
F 3 C (Isoflavon-C-glycosid- 5-O-rhamnosid ?)					+					
F 9 E (Flavonglucosid ?)							+			
A 4 S (Flavonol ?)						+				
Nach Hydrolyse :										
A 5 E (Isoflavon ?)							+			

1) nach W. POETHKE u. Mitarb., 1970 b;

2) nach B. GLOTZBACH u. H. RIMPLER, 1968.

4) Quantitative Untersuchungen der Flavonfraktion

Eine Zusammenstellung der bisher erprobten Methoden zur quantitativen Flavonbestimmung findet sich bei M. WICHTL (1971). Es sind sowohl Gesamtflavonoid-Bestimmungen als auch Bestimmungen einzelner Flavone nach chromatographischer Abtrennung beschrieben worden. Die Bestimmung der Gesamtflavonoide wird häufig nach Hydrolyse der Glycoside vorgenommen, um in der Polarität einheitliche Substanzen vorliegen zu haben (W. WILDANGER u. K. HERRMANN, 1973; B. CHRIST u. K. H. MÜLLER, 1960). Zur Bestimmung einzelner Flavone wurde die Auftrennung mittels Papierchromatographie (P. LEBRETON u. Mitarb., 1967), Dünnschichtchromatographie (R. F. HAGEN u. Mitarb., 1965; H. FLÜCK u. H. SCHWABE, 1968; W. WILDANGER u. K. HERRMANN, 1973) und Papierelektrophorese (R. PARIS u. G. FAUGERAS, 1960) beschrieben. Zur Messung der Absorption wird gewöhnlich die Komplexbildung mit Aluminiumchlorid verwendet.

Für die quantitative Bestimmung von Flavonoiden in *Passiflora*-Arten liegen in der Literatur zwei Angaben vor. H. SCHILCHER (1967) maß photometrisch den Gesamtgehalt eines Methanolextraktes nach Zusatz von Aluminiumchlorid, während W. POETHKE u. Mitarb. (1970 b) gravimetrisch die nach Säulenchromatographie des Methanolextraktes erhaltenen Flavonoide bestimmten. H. SCHILCHER (1967) bestimmte außerdem die Mengen der mit Äthylacetat aus dem Methanolauszug extrahierbaren Stoffe und stellte eine befriedigende Übereinstimmung mit den spektrophotometrisch ermittelten Werten fest.

Bei der qualitativen Untersuchung wurde festgestellt, daß im Extrakt vorwiegend Flavonmono- und diglycoside und nur wenig Aglyca vorhanden sind. Alle Flavone waren in der Flavonoid-Untersuchungslösung (s. S. 6) enthalten, so daß eine quantitative Bestimmung der Gesamtflavonoide dieser Lösung sinnvoll erschien.

In Anlehnung an die Methode von H. SCHILCHER (1967) wurden einer genau gemessenen Menge der Untersuchungslösung Aluminiumchlorid und Natriumacetat zugesetzt und die Extinktion der gelb gefärbten Lösung nach genau 15 min bestimmt. Mit Vitexin als Standard (s. exp. Teil, S. 107) wurde eine Eichkurve aufgestellt.

Die Ergebnisse dieser Bestimmungen sind in Tab. 8 zusammengestellt. In der Tabelle sind außerdem die Mengen der aus den Methanolextrakten mit Äthylacetat ausschüttelbaren Stoffe (entspricht der eingeengten Untersuchungslösung [H. SCHILCHER, 1967]) aufgeführt. Die photometrisch ermittelten Werte für den Flavonoid-Gesamtgehalt liegen bei den untersuchten Arten zwischen 0,2 % und 2,0 %, bezogen auf das Trockengewicht der Droge. *P. decussata* weist mit 0,2 % den geringsten Flavonoidgehalt auf, diese Art zeichnet sich nach unseren qualitativen Untersuchungen durch die Führung von nur einem Flavonderivat aus (ein zweites ist nur in Spuren vorhanden, die evtl. bei der Aufarbeitung entstanden sind). *P. edulis* und *P. subpeltata* sind demgegenüber mit einem Gehalt von 2,0 bzw. 1,5 % als relativ flavonoidreich zu bezeichnen. Die armlich genannte *P. incarnata* weist einen Gehalt von 0,6 % Flavonderivaten auf. Die Menge der mit Äthylacetat aus den wässrigen Methanolauszügen ausschüttelbaren Stoffe korreliert nach unseren Ergebnissen nicht mit den auf spektrophotometrischem Wege ermittelten Werten der Gesamtflavonoidgehalte.

In den von uns hergestellten Untersuchungslösungen waren zwischen 1 % (*P. decussata*) und 56 % (*P. subpeltata*) Flavonoide enthalten (bezogen jeweils auf die eingeengte Untersuchungslösung, berechnet als Vitexin). Bei der erschöpfenden Extraktion des Wasserextraktes mit Essigsäureäthylester werden offensichtlich Begleitstoffe in unterschiedlicher Menge entzogen, so daß die Flavonoide nicht durch Wägung des Rückstandes bestimmt werden können. Der photometrischen Methode der Bestimmung des Flavonoidanteils im Rückstand ist deshalb der Vorrug zu geben.

Tabelle 9: Gehalt an Flavonderivaten in % der Droge, berechnet als Vitexin (photometrisch, Spalte 1), an mit Äthylacetat aus den wäßrig-methanolischen Auszügen extrahierbaren Stoffen in % der Droge (gravimetrisch, Spalte 2) und an Flavonderivaten in der Äthylacetatausschüttelung (photometrisch, Spalte 3); die gesamte Äthylacetatausschüttelung ist 100 % gesetzt. Jeweils Mittelwerte aus drei Bestimmungen.

Art	1	2	3
<i>P. coerulea</i>	0,4	1,0	39
<i>P. decaisneana</i>	0,2	2,6	7
<i>P. edulis</i>	2,0	3,8	53
<i>P. foetida</i>	0,4	2,3	16
<i>P. incarnata</i>	0,6	1,6	38
<i>P. subpeltata</i>	1,5	2,7	56
<i>P. warmingii</i>	0,8	3,6	21

5) Diskussion über die Ergebnisse der Flavonoid-Untersuchungen

Bislang sind *P. incarnata*, *P. bryonoides*, *P. pulchella* und *P. quadrangularis* auf ihre Flavonoidführung hin untersucht worden (H. SCHILCHER, 1967 und 1968; B. GLOTZBACH u. H. RIMPLER, 1968; W. POETHKE u. Mitarb., 1970 b). Von uns wurden neben *P. incarnata* noch die bisher nicht untersuchten Arten *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* in die Untersuchungen einbezogen. Da alle Arten unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus kultiviert wurden, ist ein phytochemischer Vergleich möglich. Die von uns angewendeten Methoden erlauben eine Charakterisierung einzelner *Passiflora*-Arten sowie einzelner Inhaltsstoffe. Zur zweifelsfreien Identifizierung reichten diese Methoden jedoch nur in den Fällen aus, in denen authentische Substanzen zur Verfügung standen.

Die von den vorgenannten Autoren gefundenen Flavonderivate Vitexin, Isovitexin, Saponarin, Orientin und Isoorientin wurden auch von uns identifiziert, allerdings qualitativ und quantitativ unterschiedlich in Bezug auf die Arten (s. Zusammenstellung in Tab. 8 und Abb. 25). Unsere Untersuchungen an *P. incarnata* stimmen hierbei mit den Ergebnissen von H. SCHILCHER (1968) überein. Wir fanden wie SCHILCHER über die von B. GLOTZBACH und H. RIMPLER (1968) angegebenen Flavonderivate Vitexin, Isovitexin, Saponarin und Isoorientin hinaus noch Orientin. W. POETHKE u. Mitarb. (1970b) identifizierten in *P. bryonoides* (von uns nicht untersucht) zwei nicht näher charakterisierte Kämpferol-3-bioside. In *P. warmingii* konnten wir ebenfalls zwei Derivate des Kämpferols nachweisen, die wahrscheinlich Kämpferol-3-monosid und Kämpferol-3-biosid darstellen.

Zum ersten Mal wurden von uns Hinweise über das Vorkommen von Isoflavonen in der Gattung *Passiflora* erbracht. In *P. coerulea* wurde eine Verbindung isoliert (F 3 C), die nach ihrem chromatographischen und spektroskopischen Verhalten ein Isoflavon-C-glycosyl-5-O-rhamnosid sein könnte (s. S. 31 ; es handelt sich hier wahrscheinlich um die von PH. THEODOSSIOU (1965) nach chromatographischem Vergleich als Rutin bezeichnete Substanz, da sie auf Kieselgel mit Rutin identische hRf-Werte aufweist (System I); das Vorkommen von Rutin in *P. coerulea* konnte jedoch ausgeschlossen werden).

In *P. edulis* wurde von uns ein Aglycon (A 5 F) isoliert, für das nach Auswertung der UV-Spektren nach T.J. MABRY u. Mitarb. (1970) die Struktur eines Isoflavons möglich ist (s.S. 36). Eine Identifizierung der fraglichen Substanzen war mit den von uns angewendeten Methoden und Mengen nicht möglich.

Neu in *Passiflora*-Arten wurden von uns zwei O-Glucoside des Vitexins gefunden, nachdem das 7-O-Glucosid des Isovitexins bereits in *P. incarnata*, *P. pulchella* und *P. quadrangularis* beschrieben wurde (W. POETHKE u. Mitarb., 1970 b ; B. GLOTZBACH u. H. RIMPLER, 1968; H. SCHILCHER, 1968). Die von uns aufgefundenen Substanzen gehören offensichtlich zu dem seltenen Typ von C-Glycosiden, bei dem ein zweiter Zucker über den Glycosylrest verknüpft ist, da sich die OH-Gruppen des Vitexins in 5-, 7- und 4'-Stellung auch bei den Glucosiden als frei nachweisen lassen (s.S. 19 und S. 23). Es handelt sich demnach um zwei Apigenin-8-C- diglucoside. Erstaunlich ist, daß sich beide Glucoside chromatographisch relativ gut trennen; die Verknüpfung am Glycosylrest muß demzufolge verschiedenartig angenommen werden.

Erstmals wurde von uns ein O-Glycosid des Luteolins in *Passiflora*-Arten nachgewiesen (F 11 S Luteolinrhamnosid aus *P. subpeltata*), nachdem in den bisher untersuchten Arten vom Luteolin nur C-Glycoside gefunden worden waren. In den von anderen Autoren in *Passiflora*-Arten aufgefundenen Flavonen wurde ausschließlich Substitution der Hydroxylgruppen durch Zucker nachgewiesen. Wir konnten zwei Verbindungen isolieren (A 4 S aus *P. subpeltata* und F 9 F aus *P. edulis*), bei denen eine Substitution der Hydroxylgruppe in 7-Stellung wahrscheinlich gemacht werden konnte, wobei Zucker als Substituenten ausgeschlossen wurden (s.S. 38 und S. 41). Mit den von uns angewendeten Analysemethoden konnte nicht festgestellt werden, um welche Substituenten es sich handelt.

Nach den bisherigen Untersuchungen kommen in der Familie der Passifloraceen Flavonglycoside des Apigenins und Luteolins, in einigen wenigen Arten auch des Kämpferols vor. Es handelt sich hierbei - mit Ausnahme der Kämpferolderivate - vorwiegend um Flavon-C-Glycoside.

Diglycoside wurden vom Kämpferol (O- Biosid) und vom Apigenin (C-Glucosid- O-glucosid) nachgewiesen, während die Abkömmlinge des Luteolins nur als Mono-glucoside vorlagen.

Als Zuckerbestandteil wurde bei allen bislang aufgefundenen Flavonderivaten nur Glucose identifiziert (Ausnahmen bei *P. coerulea* und *P. subpeltata*: Rhamnose; in *P. warmingii* wurde ein in seinem chromatographischen Verhalten der Glucose ähnlicher Zucker gefunden, der nicht identifiziert werden konnte [s.auch W.POETHKE u.Mitarb., 1970 b]).

H.SCHILCHER (1967) vermutet, daß sich alle *Passiflora*-Arten durch den jeweils vorliegenden Flavonkomplex unterscheiden und beschreibt eine Möglichkeit, auf diese Weise Verfälschungen von *P. incarnata* aufzufinden. Da die Flavonoid-Biosynthese in Pflanzen von verschiedenen ökologischen Faktoren abhängt (L.L. CREASY, 1968; W.BOTTOMLEY u.Mitarb., 1966), können Vergleiche der Flavonoidführung nur mit Material durchgeführt werden, das unter gleichen Bedingungen kultiviert wurde. Diese Voraussetzung war bei den von uns untersuchten *Passiflora*-Arten gegeben. Es zeigt sich, daß jede bisher untersuchte Art ihr spezifisches Flavonspektrum besitzt, das eine eindeutige chemotaxonomische Identifizierung zuläßt. Es dürfte jedoch fraglich sein, ob das für alle der ca. 400 *Passiflora*-Arten zutrifft.

Da alle Arten gleich gezogen wurden, ist auch ein quantitativer Vergleich möglich. Die einzelnen Arten unterscheiden sich deutlich in ihrem Flavongehalt; so wurden in *P. decaisneana* 0,2 % und in *P. edulis* 2,0% Flavone (berechnet als Vitexin) gefunden. Die von anderen Autoren angegebenen Werte für *P. bryonoides* von 0,2 % (W.POETHKE u.Mitarb., 1970 b) und für *P. incarnata* von ca. 2 % (H.SCHILCHER, 1967) lassen sich mit den von uns ermittelten Werten nicht vergleichen, da das Pflanzenmaterial nicht unter gleichen Bedingungen aufgewachsen war und da verschiedene Methoden zur Gehaltsbestimmung angewendet wurden (gravimetrische Methode von W.POETHKE u.Mitarb., 1970;photometrische Messung des vom Chlorophyll durch Phasenbrechung befreiten Methanolextraktes von H.SCHILCHER, 1967; photometrische Messung einer Äthylacetat-Ausschüttelung von uns).

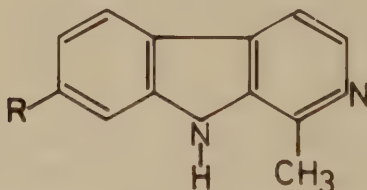
Nach H. SCHILCHER (1967) besteht die Äthylacetat-Ausschüttelung des wäßrig-methanolischen Auszuges nahezu vollständig aus Flavonderivaten, was nach unseren Untersuchungen jedoch nicht zutrifft. In Tab. 9, Spalte 3, sind die in den Äthylacetat-Ausschüttelungen enthaltenen prozentualen Anteile an Flavonderivaten aufgeführt. Diese schwanken bei den einzelnen Arten zwischen 7 % und 56 %. Eine Erklärung kann evtl. darin gesehen werden, daß wir kontinuierlich über mehrere Tage hinweg im Perforator mit Essigester ausgezogen haben, während SCHILCHER nur eine einfache Ausschüttelung vorgenommen hat.

II. Untersuchung der Alkaloide

In allen bisher untersuchten *Passiflora*-Arten, *P. incarnata*, *P. edulis*, *P. alba*, *P. bryonoides*, *P. quadrangularis*, *P. capsularis* und *P. ruberosa*, wurde Harman nachgewiesen (u.a. R.NFU, 1956; H.AMBÜHL, 1967; W.POETHKE u.Mitarb., 1970), während über das Vorkommen von Harmol, Harmin, Harmalol und Harmalin widersprüchliche Angaben vorliegen.

P. incarnata soll nach J.LUTOMSKI (1959) Harman, Harmin, Harmol und zwei nicht identifizierte Alkaloide, nach E.HULTIN (1965) Harman, Harmol und Harmalin, nach H.AMBÜHL (1967) Harman, Harmin und Harmol und nach E.BENATTI (1967) Harman, Harmin und Harmalin enthalten, während R.LONGO (1968) und W.POETHKE u.Mitarb., (1970) nur Harman fanden. *P. coerulea* enthält nach Angaben von H.AMBÜHL (1967) Harman, Harmin und Harmol, während R.LONGO (1968) hierfür nur das Vorkommen von Harman bestätigen kann.

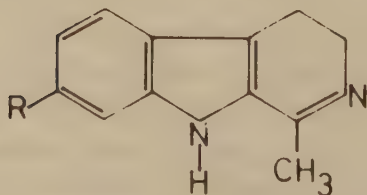
Diese widersprüchlichen Angaben veranlaßten uns, die von uns unter gleichen Bedingungen gezogenen sieben *Passiflora*-Arten auf Alkaloide zu untersuchen.



R = H = Harman

R = OH = Harmol

R = OCH₃ = Harmin



R = OH = Harmalol

R = OCH₃ = Harmalin

1) Anreicherung der Alkaloide

Die Alkaloide wurden aus den gleichen Methanolauszügen gewonnen, aus denen die Flavonoide isoliert wurden. Der Trennungsgang ist in Abb.2, S. 7 schematisch dargestellt. Die nicht wasserlöslichen Bestandteile des Methanolextraktes wurden angesäuert und die wäßrig-saure Suspension filtriert. In der klaren salzsauren Lösung befanden sich die Alkaloide gelöst als HCl-Salze.

Obwohl die Alkaloide im allgemeinen nur schwer wasserlöslich sind, wurden auch die wasserlöslichen Bestandteile des Methanolextraktes mit in die Gewinnung der Alkaloidfraktion einbezogen. Diese waren zur Gewinnung der Flavonderivate zunächst mit Essigester ausgezogen worden (s. S. 6); die nicht in Essigester löslichen Substanzen wurden mit dem wäßrig-sauren Auszug vereinigt. Da der Essigesterextrakt - wie eine Prüfung ergab - keine Alkaloide enthielt, war sichergestellt, daß in dem vereinigten wäßrig-sauren Auszug alle im Methanolextrakt enthaltenen Pflanzenbasen enthalten sein mußten.

Die salzsaure Lösung wurde anschließend in Anlehnung an die von W.POETHKE u.Mitarb. (1970 a) ausgearbeitete Vorschrift weiter aufgearbeitet. Diese Autoren hatten festgestellt, daß sich Harmol und Harmamol auf Grund ihrer phenolischen OH-Gruppe nicht mit organischen Lösungsmitteln aus stark alkalischen Lösungen ausschütteln lassen, daß jedoch die Ausschüttelung aus ammoniakalischen Lösungen mit Essigsäureäthylester möglich ist. Die vereinigten salzsauren Lösungen wurden deshalb mit NH_3 10% bis zum pH 9 versetzt (Universalindikatorpapier) und anschließend mit Essigester ausgeschüttelt. Die verbliebene Wasserphase wurde mit NaOH bis zum pH 11 (Universalindikatorpapier) alkalisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Essigester- und Chloroformauszüge wurden schonend zur Trockne eingeeengt, die Rückstände in wenig Methanol aufgenommen und vereinigt.

2) Qualitative Untersuchungen der Alkaloidfraktionen

Die vorgenannten Lösungen wurden zunächst dünnschichtchromatographisch an Kieselgel G aufgetrennt (s. Abb. 26).

Alle im Dünnschichtchromatogramm sichtbaren Flecken (Abb.26) wurden isoliert und UV-spektroskopisch untersucht. Kein Fleck war mit Harmol, Harmalol, Harman oder Harmin identisch.

In allen Arten ist ein Fleck nachzuweisen, der auf der gleichen Höhe wie Harman liegt. Um die Identität dieser Flecken mit Harman nachzuweisen, wurden die entsprechenden Zonen von der Platte abgeschabt, die Substanzen mit Methanol eluiert und UV-Spektren aufgenommen (Abb.27). Wegen der identischen Spektren und des gleichartigen chromatographischen Verhaltens kann das Vorkommen von Harman in allen untersuchten *Passiflora*-Arten als bewiesen gelten.

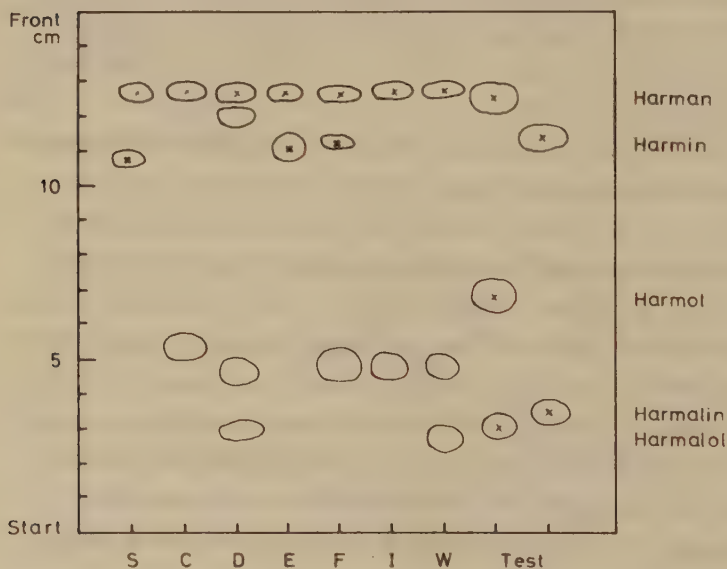


Abb.26: Dünnschichtchromatographische Trennung der Alkaloid-Fraktion aus *P. subpeltata* (= S), *P. coerulea* (= C), *P. decaisneana* (= D), *P. edulis* (= E), *P. foetida* (= F), *P. incarnata* (= I) und *P. warmingii* (= W).
Schicht: Kieselgel G; Fließmittel: Chloroform 8, Methanol 2; Detektion durch UV360 und Ansprühen mit Dragendorfs Reag. (nach Mounier und Macheboef); x = reagiert mit Dragendorfs Reagenz.

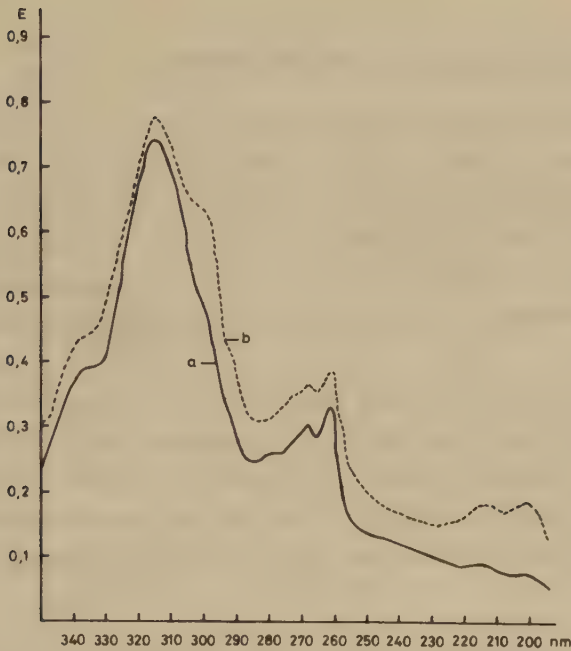


Abb. 27: UV-Spektrum des isolierten (a) und authentischen (b) Harmans.

Da die Möglichkeit bestand, daß die anderen Alkaloide der Harmanreihe nur in geringer Konzentration vorliegen, wurde das Anreicherungsverfahren nach F. HULTIN (1965) angewendet. Nach HULTIN gehen bei einer wäßrig-organischen Ausschüttelung Harman, Harmin und Harmalin bei pH 11 in die Ätherphase, während die bei diesem pH-Wert in der Wasserphase verbleibenden Alkaloide Harmol und Harmalol bei einem pH von 8 nahezu quantitativ in die Ätherphase übergehen. Weder bei pH 8 noch bei pH 11 konnte von uns bei den untersuchten *Passiflora*-Arten in den Ätherphasen ein anderes Alkaloid außer Harman nachgewiesen werden.

Die von E. BENATTI (1967) vorgeschlagene gaschromatographische Prüfung ließ sich mit unseren Untersuchungslösungen nicht durchführen, da diese offensichtlich noch zu stark verunreinigt waren.

3) Quantitative Untersuchungen der Alkaloidfraktionen

Für die quantitativen Alkaloid-Untersuchungen in *Passiflora*-Arten werden eine acidimetrische Gesamtbestimmung (H.AMBÜHL, 1967, Ph.Helv.VI) und eine photometrische Bestimmung des Hauptalkaloids Harman angewendet (W. MESSERSCHMIDT, 1968; W.POETHKE u.Mitarb., 1970). Die von den genannten Autoren auf diese Weise erhaltenen Werte differieren erheblich voneinander, so daß es sinnvoll erschien, beide Methoden an demselben Untersuchungsmaterial zu überprüfen.

Die acidimetrische Bestimmung wurde direkt mit einer genau gemessenen Menge der Untersuchungslösung vorgenommen. Für die photometrische Bestimmung wurde Harman durch präparative Dickschichtchromatographie isoliert; eine Messung der Extinktion war allerdings erst nach zweimaligem Chromatographieren in demselben Laufmittel möglich, da nach dem ersten Mal noch Verunreinigungen enthalten waren.

Abb.28 zeigt die Extinktionskurven mit authentischem Harman; in Tab.10 sind die für die beiden Bestimmungen gefundenen Werte zusammengestellt worden.

Tabelle 10: Quantitative Alkaloid-Bestimmung der *Passiflora*-Arten der acidimetrischen und photometrischen Bestimmung.

Art	Acidimetr. Best. mg Alkaloid/100 g Droge	Photometr. Best. mg Harman/100 g Droge
<i>P. incarnata</i>	1,4	0,055
<i>P. decaisneana</i>	2,2	0,085
<i>P. foetida</i>	5,1	0,070
<i>P. warmingii</i>	2,2	0,065
<i>P. coerulea</i>	8,2	0,056
<i>P. edulis</i>	2,2	0,085
<i>P. subpeltata</i>	7,5	0,039

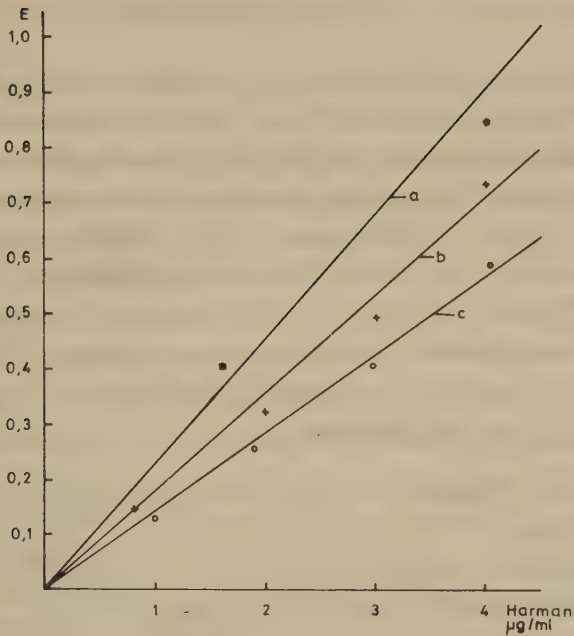


Abb. 28: Extinktionskurven von Harman.

- a = Extinktionskurve der Reinsubstanz;
- b = Extinktionskurve von Harman nach einmaligem Lauf und Flution vom Dickschichtchromatogramm;
- c = Extinktionskurve von Harman nach zweimaligem Lauf und Flution vom Dickschichtchromatogramm.

Auch bei unseren Untersuchungen differieren die Werte der acidimetrischen Gesamt- und photometrischen Harman-Bestimmung ganz erheblich, obwohl neben Harman keine anderen Alkaloide in größeren Konzentrationen in den untersuchten *Passiflora*-Arten gefunden wurden. Auch die Relationen untereinander sind nicht gleich: so weist nach der acidimetrischen Bestimmung *P. coerulea* den höchsten und *P. incarnata* den geringsten Gehalt auf, während nach der photometrischen Bestimmung der höchste Gehalt bei *P. edulis* und *P. decaisneana* und der geringste Gehalt bei *P. subpeltata* ermittelt wurde. Bei der acidimetrischen Methode werden offensichtlich andere Substanzen mit erfaßt, wobei zur Zeit offenbleiben muß, um welche es sich im einzelnen handelt.

4) Diskussion der Ergebnisse der Alkaloid-Untersuchungen

Die qualitativen und quantitativen Angaben in der Literatur (s.S. 58) über die Führung von Harmanalkaloiden in *Passiflora*-Arten differieren erheblich. Unsere Untersuchungen wurden mit unter gleichen Bedingungen aufgezogenem Pflanzenmaterial durchgeführt. In allen untersuchten Arten wurde nur Harman nachgewiesen. Das steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von W.POETHKE u.Mitar. (1970 a) und R.LONGO (1968). Das von J.LUTOMSKI (1959), E.HULTIN (1965), H.AMBÜHL (1967) und E.BENATTI (1967) angegebene Vorkommen von anderen Alkaloiden der Harmanreihe kann für die von uns untersuchten *P.coerulea*, *P.decaisneana*, *P.edulis*, *P.foetida*, *P.incarnata*, *P.subpeltata* und *P.warmingii* nicht bestätigt werden.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der acidimetrischen und photometrischen Gehaltsbestimmung (H.AMBÜHL, 1967 und W.POETHKE u.Mitarb., 1970) lassen sich nicht auf unterschiedliches Pflanzenmaterial zurückführen, da wir mit einheitlichem Material die gleichen Unterschiede feststellten. Sie müssen demnach auf die angewendeten Methoden und auf die damit erfaßten Substanzen zurückzuführen sein.

Interessant ist, daß im Vergleich mit den anderen untersuchten Arten der Alkaloidgehalt von *P.incarnata* nach beiden angewendeten Methoden sehr gering ist. Dies deutet - wie auch einige pharmakologische Untersuchungen (J.A.GUNN, 1937; s.auch H.AMBÜHL, 1966) - darauf hin, daß für die sedierende Wirkung von *P.incarnata* die Alkaloide wahrscheinlich nicht verantwortlich sind.

III. Untersuchung der Lipoidfraktion

Bei der Entfettung des Krautes der *Passiflora*-Arten mittels Petroläther wurde als Rückstand eine grünliche, viskose Lipoidfraktion erhalten. Da über ihre Zusammensetzung bisher noch keine Angaben vorliegen, wurde diese Fraktion in die vergleichenden Untersuchungen der sieben kultivierten *Passiflora*-Arten einbezogen.

1) Fettsäuren

Neben gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit einer Kohlenstoffzahl von 12 bis 22 C-Atomen sind in jüngster Zeit auch solche mit hiervon abweichenden Strukturen, wie z.B. Alkin-, Hydroxy-, Epoxy-, Oxo-, Cyclopropan- und Cyclopropen-Fettsäuren (s. Übersichtsarbeiten von P. POHL und H. WAGNER, 1972 a, b) häufiger gefunden worden. Sie alle lassen sich auf Grund ihrer Carboxylgruppe mit wäßrig-alkalischen Lösungen von anderen Lipoiden abtrennen. (E. STAHL, 1967; H. F. E. NUFFER, 1964; E. GILDEMEISTER u. F. HOFFMANN, 1960; K. H. BAUER u. H. MOLL, 1954.)

Die Fraktion der n-Fettsäuren läßt sich durch präparative Dickschichtchromatographie von z.B. sauerstoffhaltigen Säuren abtrennen (K. D. REHM, 1967). Die Identifizierung der Fettsäuren kann durch Dünnschichtchromatographie oder Gaschromatographie erfolgen. Zur dünn-schichtchromatographischen Untersuchung wurden die freien Fettsäuren, die Hydroxamate und die Methylester der Fettsäuren verwendet (D. HEUSSER, 1968; H. KATING u. Mitarb., 1970), während die gaschromatographische Trennung vorteilhaft mit den Fettsäuremethylestern durchgeführt wird (H. KATING u. Mitarb., 1970; W. RINN, 1970). Eine Auftrennung der Fettsäuren in gesättigte und ungesättigte Verbindungen ist durch die von E. JANTZEN u. H. ANDREAS (1960) beschriebene Adduktbildung mit Quecksilber (II)-acetat möglich. Die nicht reagierenden gesättigten Fettsäuremethylester können durch präparative Dickschichtchromatographie abgetrennt werden, während die ungesättigten Verbindungen nach der Anzahl der vorhandenen Doppelbindungen aufgetrennt werden (H. K. MANGOLD u. R. KAMMERERCK, 1961; H. WAGNER u. P. POHL, 1964).

Nach der Adduktspaltung (A.GLASER u.Mitarb., 1962) lassen sich die ungesättigten Fettsäuren durch Gaschromatographie, Hydrierung und oxidativen Abbau identifizieren (P.POHL u.Mitarb., 1969; W.RINN, 1970).

Der von uns gewählte Trennungs- und Identifizierungsgang ist in Abb.29 schematisch dargestellt. Da sich die Fettsäurefraktion mit dem von E.STAHL (1967) vorgeschlagenen Natriumhydrogencarbonat nicht immer vollständig abtrennen läßt (W.RINN, 1970), wählten wir zum Ausschütteln der Petrolätherextrakte Natriumcarbonatlösung. Nach dem Ansäuern und Ausäthern der wäßrigen Phase verblieb eine dunkelgrüne, viskose Masse, die durch erneute Ausschüttelung mit Petroläther und 5 %iger wäßriger Natriumcarbonatlösung gereinigt wurde. Die nach abermaligem Ansäuern und Ausäthern der wäßrigen Phase gewonnene Fraktion war immer noch grünlich. Sie wurde zur ersten Orientierung in dem von K.D. REHM (1967) angegebenen Laufmittelsystem Chloroform/Äthylacetat/Ameisensäure 90 : 10 : 2 an Kieselgelplatten chromatographiert. Auf den mit Pyranin ¹⁾ imprägnierten Platten waren im UV bei 360 nm zwei blau fluoreszierende Zonen vorhanden, eine schwache bei etwa $R_f = 0,2$ und eine stärkere bei etwa $R_f = 0,6 - 0,75$ (Abb.30). Die stärkere Zone lag in einer Höhe mit Palmitinsäure. Es handelt sich hier um die Fraktion der n-Fettsäuren.

Bei den Flecken vom $R_f = 0,2$ dürfte es sich nach K.D.REHM (1967) um Hydroxy- oder Oxyfettsäuren handeln. *P. foetida* ist gegenüber allen anderen Arten durch einen erhöhten Gehalt an diesen sauerstoffhaltigen Fettsäuren charakterisiert.

a) Untersuchung der n-Fettsäuren

Die Fraktion der n-Fettsäuren wurde durch präparative Dickschichtchromatographie im oben genannten System von den zahlreichen, vor allem grünen Ballaststoffen ($R_f = \text{ca. } 0,9$) befreit. Dieses war jedoch zum Teil nur nach mehrmaligem Chromatographieren möglich.

Nach dem Ausschaben der blau fluoreszierenden Zone wurde das Kieselgel mit Äther eluiert. Das Eluat stellte nach dem Abdampfen des Äthers eine grün-gelbe, wachsartige Substanz dar, die zum größten Teil aus freien Fettsäuren bestand.

¹⁾ 3-Hydroxypyren-5,8,10-trisulfonsaures Natrium; Fa. BAYER, Leverkusen.

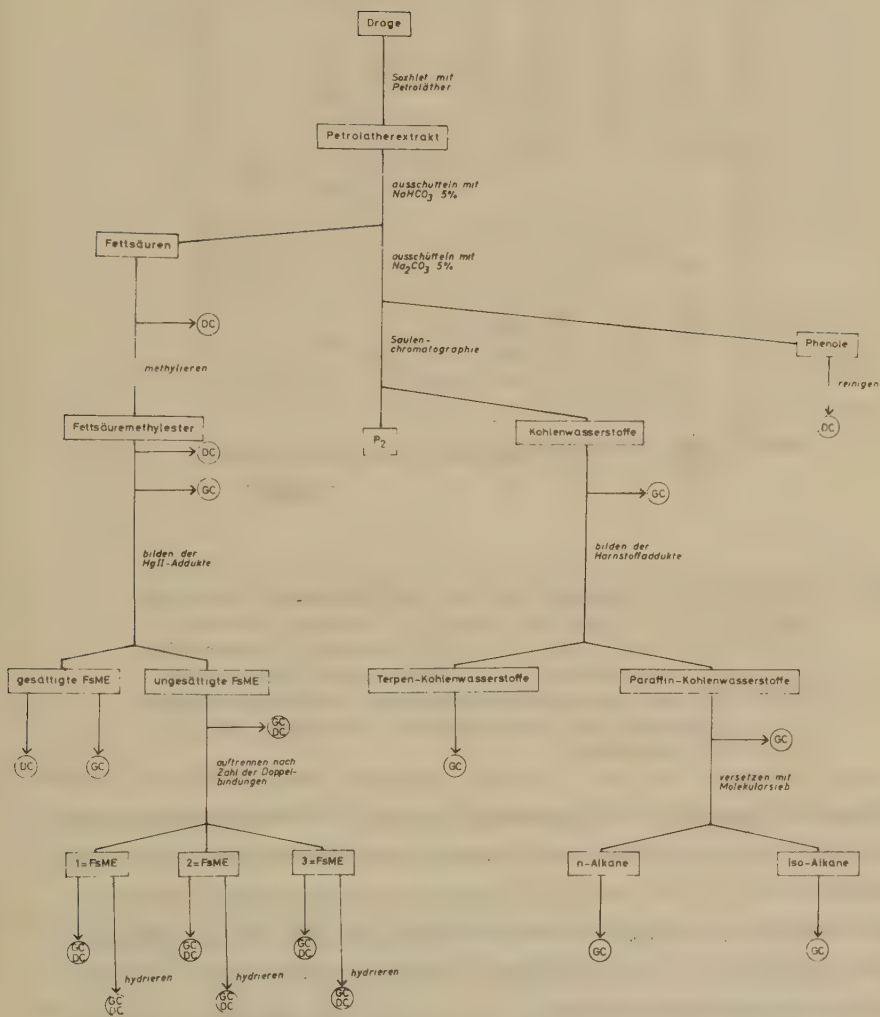


Abb. 29: Schematischer Trennungs- und Nachweisgang für Fettsäuren und Kohlenwasserstoffe.

DC = dünnschichtchromatographische Prüfung;

GC = gaschromatographische Prüfung.



Abb.30: Dünnschichtchromatogramm der ungereinigten Gesamt-Fettsäurefraktionen von *P. subpeltata* (=S), *P. coerulea* (=C), *P. decaisneana* (=D), *P. edulis* (=E), *P. foetida* (=F), *P. incarnata* (=I) und *P. warmingii* (=W). Schicht: Kieselgel mit Pyranin imprägniert; Fließmittel: Chloroform 90, Äthylacetat 10, Ameisensäure 2; Detektion: UV₃₆₀; x = hellblaue Fluoreszenz.

Diese wurden dünn-schichtchromatographisch getrennt. Die Trennung gelingt nach D.HEUSSER (1968) auf silanisiertem Kieselgel mit dem Fließmittel Dioxan/Wasser/Ameisensäure 60 : 35 : 5. Eine sichere Analyse der vorliegenden Fettsäuren ist nach D.HEUSSER jedoch erst nach Trennung der ungesättigten von den gesättigten Fettsäuren möglich, da diese miteinander zahlreiche "kritische Paare" bilden. Das ist auch aus der Abb.31 ersichtlich. Sie zeigt das Chromatogramm der freien Fettsäuren. Bei allen Arten lassen sich Hauptflecken erkennen, die jedoch in langen, nicht differenzierten Zonen liegen. Die n-Fettsäuren der Fraktion werden demnach in diesem System nicht vollständig voneinander getrennt. Aus der Abb.31 geht aber bereits hervor, daß vornehmlich C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren in den Fraktionen vorliegen.

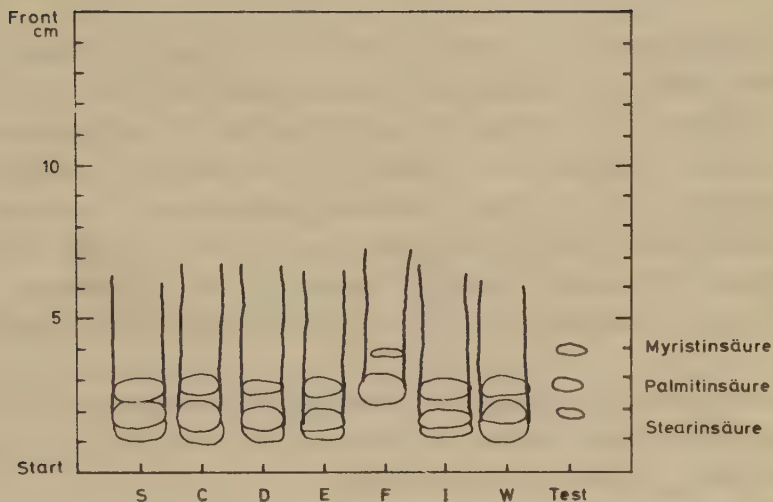


Abb. 31: Chromatogramm der freien n-Fettsäuren von *P. subpeltata* (=S), *P. coerulea* (=C), *P. decaisneana* (=D), *P. edulis* (=E), *P. foetida* (=F), *P. incarnata* (=I) und *P. warmingii* (=W) auf silanisiertem Kieselgel.

Fließmittel: Dioxan 60, Wasser 35, Ameisensäure 5; Detektion durch Ansprühen mit Phosphormolybdänsäure-Lösung.

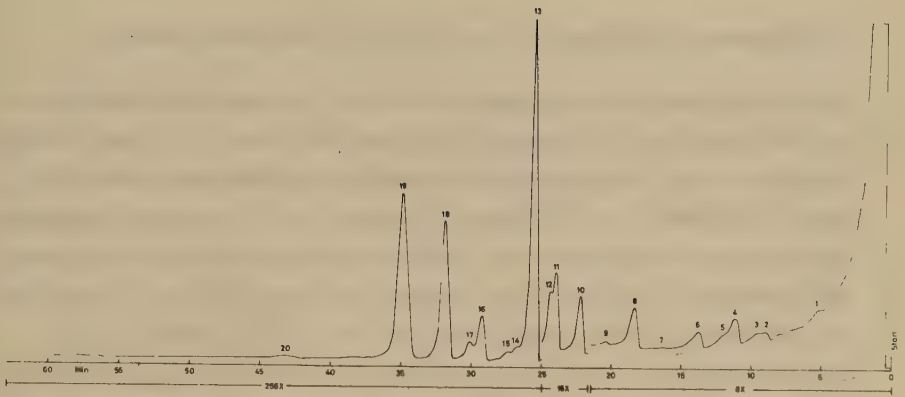
In Spuren sind kürzerkettige Fettsäuren vorhanden. Lediglich *P. foetida* bildet für höhere Pflanzen eine sehr bemerkenswerte Ausnahme, da offensichtlich keine C_{18} -Fettsäuren nachgewiesen werden können.

Weitere Untersuchungen an der Fettsäurefraktion wurden nach Veresterung der n-Fettsäuren mit Diazomethan vorgenommen (s. exp. Teil, S. 110) (P. POHL u. Mitarb., 1969; H. KATING u. Mitarb., 1970). Nach der Methylierung werden die noch leicht verunreinigten Fraktionen durch präparative Dickschichtchromatographie gereinigt (Laufmittel: Petroläther/Äther = 7 : 3; Adsorbens: Kieselgel H, imprägniert mit Pyranin; nach K.D. REHM, 1967). Hierbei liegt die Zone der n-Fettsäuren etwa bei einem R_f von 0,7. Der nach dem Fluieren verbleibende Rückstand ist weißlich und halbfest.

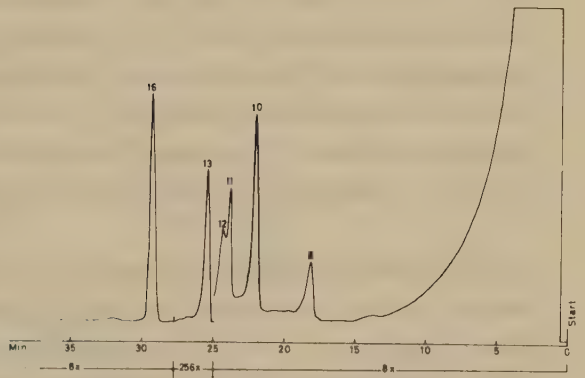
Die Fettsäuremethylester wurden auf silanisiertem Kieselgel (Fa. MERCK) untersucht (Fließmittel: Aceton/Methanol/Wasser/Eisessig = 70 : 50 : 35 : 1 ; nach D. HEUSSER, 1968). Es ergab sich nahezu das gleiche Bild wie bei der Untersuchung der freien Fettsäuren (Abb. 31). Auch hier waren die Hauptflecken in der Höhe der C_{16} - und C_{18} -Fettsäuremethylester, wobei aber keine Trennung der gesättigten und ungesättigten Verbindungen gelang. In allen untersuchten Arten (ausgenommen *P. foetida*) sind in der Hauptsache C_{16} - und C_{18} -Fettsäuren enthalten, in Spuren auch kürzerkettige. *P. foetida* enthält hauptsächlich C_{16} -Fettsäuren.

Bei der gaschromatographischen Untersuchung der n-Fettsäuren wurde die homologe Reihe der Fettsäuren von Önanthensäure bis Stearinsäure nachgewiesen, ferner die gesättigte C_{20} -Fettsäure und die ungesättigten C_{14} -, C_{15} -, C_{16} - und C_{18} -Fettsäuren. Die auftretenden Peaks wurden identifiziert durch Zumischen authentischer Substanzen und Vergleich der beobachteten relativen Retentionszeiten mit denjenigen einer Vergleichsmischung (s. exp. Teil, S. 100).

Mit der genannten Methode wurden die obigen Fettsäuren (Ausnahmen bei *P. foetida*) bei allen Arten nachgewiesen. *P. foetida* enthält keine Öl- und Linolensäure und der Linolensäure-Peak ist nur sehr schwach ausgebildet. Ebenso fehlt die ungesättigte C_{14} -Verbindung, so daß keine der wesentlichen ungesättigten Fettsäuren in größeren Mengen nachgewiesen werden konnte, während die homologe Reihe der gesättigten Fettsäuren vorhanden ist. Die Abb. 32a zeigt die Gesamt-Fettsäuremethylester von *P. incarnata*, Abb. 32b zeigt diejenigen von *P. foetida*. Nach P. POHL und H. WAGNER (1972) ist bei höheren Landpflanzen ein Verhältnis von ungesättigten zu gesättigten Fettsäuren von ca. 2 : 1 als normal anzusehen, wobei bei den ungesättigten Fettsäuren Öl-, Linol- und Linolensäure dominieren. Nach der qualitativen Untersuchung läßt sich sagen, daß *P. foetida* hiervon entscheidend abweicht, da von den genannten ungesättigten Fettsäuren lediglich Linolensäure in geringen Mengen nachgewiesen werden konnte.



(a)



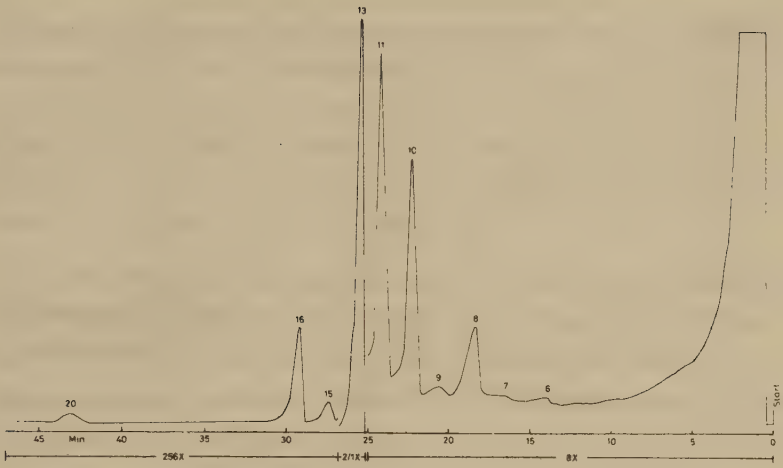
(b)

Abb. 32: Fraktogramme der Gesamt-n-Fettsäuremethylester von (a) *P. incar-nata* und (b) *P. foetida*.
(Stahlsäulen 2 m mit 2,5 % Äthylenglycolsuccinat auf Chromosorb G im Kompensationsbetrieb; 50 - 180°, + 5° / min).

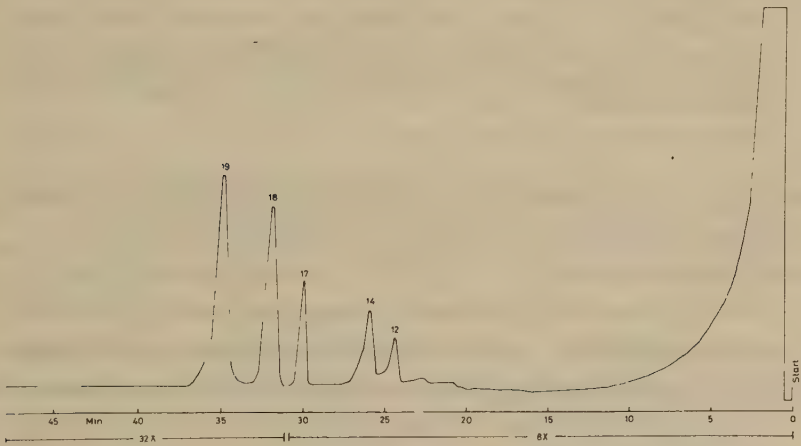
b) Abtrennung und Untersuchung der gesättigten Fettsäuremethylester

Da sowohl bei der gaschromatographischen als auch vor allem bei der dünn-schicht-chromatographischen Untersuchung eine einwandfreie Trennung der schon erwähnten "kritischen Paare" von gesättigten und ungesättigten Fettsäuremethylestern nicht gelingt (D.HEUSSER, 1968; H.KATING u.Mitarb., 1970), wurden die ungesättigten Verbindungen nach E.JANTZEN u.H.ANDREAS (1959) in die Quecksilber (II)-acetat-Addukte überführt. Die gesättigten Fettsäuremethylester reagieren nicht und lassen sich chromatographisch abtrennen (s.exp.Teil, S.111; H.K.MANGOLD u.R.KAMMERECK (1961)). Die Hg (II)-acetat-Addukte verbleiben am Start, während die gesättigten Fettsäuremethylester bei einem Rf-Wert von ca. 0,7 liegen. Durch Abkratzen und Fluieren dieser Zone wurde eine weiße, feste, schuppige Fraktion gewonnen, deren gaschromatographische Untersuchung bei allen Arten das Vorliegen der homologen Reihe von Önanth- bis Stearinsäure ergab. Die C₂₀-Fettsäure wurde mit Ausnahme von *P. foetida* und *P. warmingii* bei allen Arten nachgewiesen. Bei *P. foetida* konnten die homologen Fettsäuren mit einer geringeren C-Zahl als 11 nicht nachgewiesen werden. Es ist allerdings zu vermuten, daß diese recht flüchtigen Säuren evtl. trotz schonender Aufarbeitung verdampft sind. Die Identifikation der Peaks gelang durch Vergleich der relativen Retentionsvolumina mit denen authentischer Substanzen. Als Beispiel für die erhaltenen Fraktogramme zeigt die Abb. 33a das Fraktogramm der gesättigten Fettsäuremethylester von *P. incarnata*.

Die dünn-schichtchromatographische Untersuchung der gesättigten Fettsäuremethylester auf silanisiertem Kieselgel (Fa. MERCK), Fließmittel: Aceton/Methanol / Wasser / Eisessig = 70 : 50 : 35 : 1 nach D.HEUSSER (1968), bestätigt das Vorhandensein von Palmitinsäure- und Stearinsäuremethylester in allen untersuchten Arten (Abb. 34). Bei *P. foetida* läßt sich darüberhinaus noch Myristinsäuremethylester nachweisen, während der Fleck in Höhe der Stearinsäure sehr schwach ist. Die kürzerkettigen Fettsäuremethylester erscheinen offensichtlich in Folge der grossen quantitativen Unterschiede hier nicht.



(a)



(b)

Abb. 33: Fraktogramme der a) gesättigten n-Fettsäuremethylester und b) ungesättigten n-Fettsäuremethylester von *P. incarnata*. (Stahlsäulen 2 m mit 2,5 % Äthylenglycolsuccinat auf Chromosorb G im Kompensationsbetrieb; 50-180°, + 5°/min.)

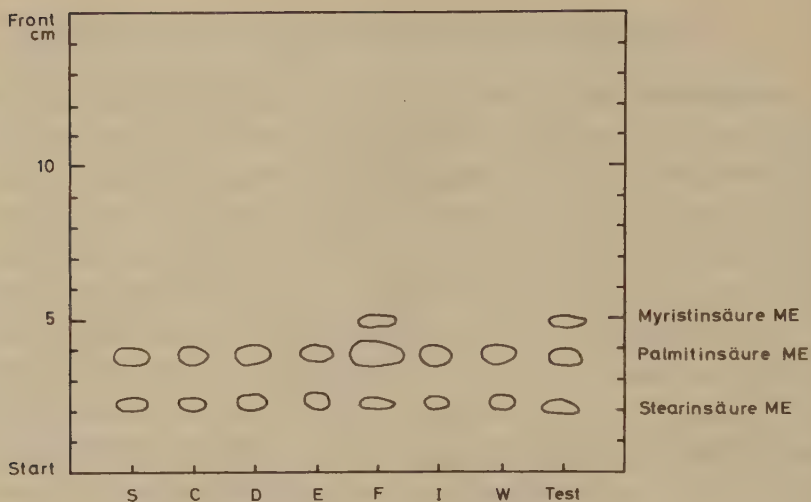


Abb.34: Dünnschichtchromatogramm der gesättigten Fettsäuremethylester von *P. subpeltata* (=S), *P. coerulea* (=C), *P. decaisneana* (=D), *P. edulis* (=E), *P. foetida* (=F), *P. incarnata* (=I) und *P. warmingii* (=W) auf silanisiertem Kieselgel (Aceton 70, Methanol 50, Wasser 35, Eisessig 1). Detektion durch Ansprühen mit Phosphormolybdänsäure-Lösung.

Die Untersuchung der Hydroxamate der gesättigten Fettsäuren erfolgte dünnschichtchromatographisch auf silanisiertem Kieselgel (Fließmittel: Methanol/Dioxan/Chloroform/Glycocolpuffer pH 3,0 = 4 : 3 : 1 : 4 nach D. HEUSSER, 1968). Auch hier wurde bei allen Arten Palmitinsäure nachgewiesen und der etwas schwächere Fleck der Stearinsäure. Bei *P. foetida* ist noch Myristinsäurehydroxamat enthalten, während Stearinsäurehydroxamat nur in Spuren nachgewiesen werden konnte.

c) Untersuchung der ungesättigten Fettsäuremethylester

Bei der Abtrennung der gesättigten Fettsäuremethylester durch präparative Dünnschichtchromatographie blieben die Hg (II)-acetat-Addukte der ungesättigten Fettsäuremethylester am Start liegen (s.S. 72). Bei einem Teil der hergestellten Platten wurde diese Startzone eluiert, mit dem anderen Teil der Platten wurde wie weiter unten dargestellt verfahren.

Durch Einleiten von H_2S in das Fluat wurde das Quecksilber-Addukt durch Bildung von unlöslichem HgS zerstört (Adduktspaltung nach A.GLASER u. Mitarb., 1962) und durch gaschromatographische Analyse das Vorhandensein von Linolensäure, Linolsäure, Ölsäure und Palmitoleinsäure bei allen Arten bis auf *P. foetida* nachgewiesen. Als Beispiel zeigt die Abb. 33 b das Fraktogramm der ungesättigten Fettsäuremethylester von *P. incarnata*.

P. foetida fällt durch einen sehr geringen Anteil an ungesättigten Verbindungen auf. Hier konnten Linolsäure, Palmitoleinsäure und eine ungesättigte C_{15} -Säure identifiziert werden. Eine ungesättigte C_{14} -Säure konnte bei *P. edulis* und *P. warmingii* und eine ungesättigte C_{15} -Säure noch bei *P. edulis*, *P. incarnata* und *P. warmingii* nachgewiesen werden.

Um die Identität der gefundenen ungesättigten Fettsäuremethylester weiter zu bestätigen und zu klären, um welche ungesättigten C_{14} - und C_{15} -Fettsäuren es sich handelt, wurde die Fraktion der ungesättigten Fettsäuremethylester nach der Anzahl der vorhandenen Doppelbindungen aufgetrennt. Dieselben Dickschichtplatten, mit denen die gesättigten Verbindungen abgetrennt wurden (s.S. 74), wurden anschließend im Fließmittel n-Propanol/Eisessig = 100 : 1 entwickelt (H.K.MANGOLD u. R.KAMMFRECK, 1961). In diesem System trennen sich die Addukte der ein-, zwei- und dreifach ungesättigten Fettsäuremethylester (s. Abb. 35). Die entsprechenden Zonen wurden ausgeschabt und die Addukte eluiert. Anschließend wurden die Fettsäuremethylester durch Adduktspaltung nach A.GLASER (1962) wiedergewonnen und untersucht.

Bei den durch Elution der Trien-Adduktzone gewonnenen Verbindungen wurde im Gaschromatogramm nur ein Peak gefunden, dessen Retentionsvolumen mit dem von Linolensäuremethylester übereinstimmte. Nach der katalytischen Hydrierung war das Retentionsvolumen identisch mit demjenigen des Stearinsäuremethylesters.

Die Lage der Doppelbindungen wurde durch den oxidativen Abbau des zu identifizierenden Fettsäuremethylesters festgestellt. Nach W.RINN (1970) sind von der bei oxidativer Spaltung zu erwartenden Propionsäure, Malonsäure und Azelainsäure nur letztere gaschromatographisch nachzuweisen, was bei den fraglichen Substanzen gelang.

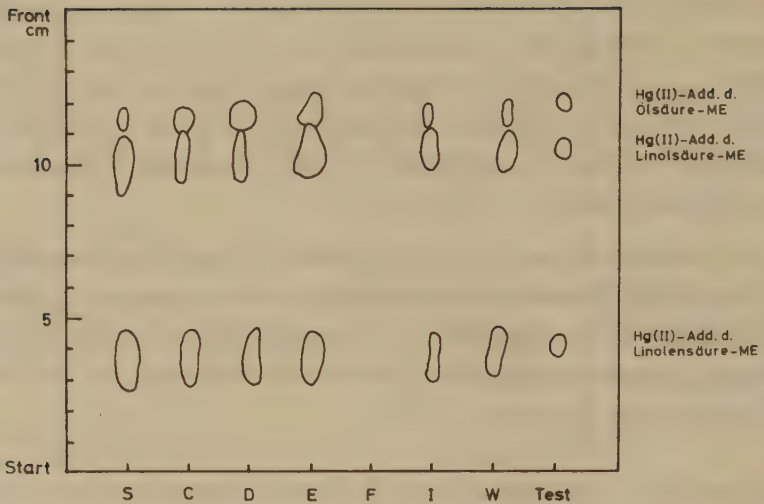


Abb. 35: Dünnschichtchromatogramm der Hg(II)-acetat-Addukte der ungesättigten Fettsäuremethylester von *P. subpeltata* (=S), *P. coerulesa* (=C), *P. decaisneana* (=D), *P. edulis* (=E), *P. foetida* (=F), *P. incarnata* (=I) und *P. warmingii* (=W) auf Kieselgel (n-Propanol 100, Eisessig 1). Detektion durch Ansprühen mit Dithizon-Lösung.

Die aus den Dien-Adduktzonen regenerierten Verbindungen bestehen gaschromatographisch aus einer Substanz, deren Retentionsvolumen mit dem von Linolsäuremethylester identisch ist. Nach der katalytischen Hydrierung läßt sich Stearinsäuremethylester gaschromatographisch nachweisen. Die Lage der Doppelbindungen wurde wiederum durch oxidativen Abbau gefunden, bei dem Azelainsäure als Spaltprodukt gaschromatographisch nachgewiesen wurde (W. RINN, 1970). Die Analysen beweisen, daß es sich bei der zweifach ungesättigten Fettsäure um Linolsäure handelt.

Die aus den Monoen-Adduktzonen regenerierten Verbindungen stellen ein Gemisch aus vier Fettsäuremethylestern dar. Zwei der bei der gaschromatographischen Analyse auftretenden Peaks waren identisch mit denjenigen der Öl- bzw. Palmitoleinsäuremethylester. Nach der katalytischen Hydrierung wurden wiederum vier Peaks beobachtet, die identisch waren mit den auftretenden Peaks von Stearin-, Palmitin-, Pentadecan- und Myristinsäuremethylester.

Bei den einfach ungesättigten Verbindungen dürfte es sich um einfach ungesättigte C_{14} -, C_{15} -Fettsäuren, um Ölsäure und um Palmitoleinsäure handeln. Weitere Untersuchungen konnten wegen Substanzmangels nicht durchgeführt werden.

d) Quantitative Bestimmungen der Fettsäurefraktion

Wegen der recht unterschiedlichen Mengen der Petrolätherextrakte einerseits und der abweichenden qualitativen Zusammensetzung des Fettsäuregemisches von *P. foetida* andererseits erschien es notwendig, die prozentualen Anteile der Fettsäuren bezogen auf das Trockengewicht der Pflanzen und auf den Petrolätherextrakt sowie die Anteile der einzelnen Fettsäuren am Fettsäuregemisch zu bestimmen. Hierzu wurden die Fraktogramme der Gesamtfettsäuremethylester ausgewertet, indem die Fläche unter den Peaks nach der Näherungsmethode "Höhe x Breite in halber Höhe" unter Verwendung eines Korrekturfaktors berechnet wurde (s.exp. Teil, S. 100). Die Ergebnisse sind in den Tab. 11 und 12 wiedergegeben.

Tabelle 11: Menge der Fettsäuren, bezogen auf die Droge und auf den Petrolätherextrakt und Menge des Petrolätherextraktes, bezogen auf die Droge. Die Zahlenwerte stellen Mittelwerte aus jeweils drei Analysen dar.

Art	g Petroläther- extrakt / 100 g Droge	mg Fettsäuren/ 100 g Droge	g Fettsäuren/ 100 g Petrol- ätherextrakt
<i>P. coerulea</i>	2,2	1,76	0,08
<i>P. decaisneana</i>	1,1	3,3	0,30
<i>P. edulis</i>	2,0	4,0	0,20
<i>P. foetida</i>	3,4	1,7	0,05
<i>P. incarnata</i>	2,0	1,4	0,07
<i>P. subpeltata</i>	2,7	2,7	0,10
<i>P. warmingii</i>	2,2	4,4	0,20

Die sieben untersuchten *Passiflora*-Arten enthalten zwischen 1,4 und 4,4 mg Fettsäuren in 100 g Droge; Werte, die auch bei anderen Pflanzen gefunden wurden (P. POHL u. H. WAGNER, 1972 a). Die Menge der mit Petroläther extrahierbaren Stoffe korreliert nicht mit der Menge an Fettsäuren.

Die quantitative Zusammensetzung des Fettsäuregemisches ist mit Ausnahme von *P. foetida* bei allen untersuchten Arten annähernd gleich. Bei sechs der sieben Arten sind Palmitin-, Linol- und Linolensäure die Hauptbestandteile und machen zusammen 85 - 90 % des Fettsäuregemisches aus. Diese sechs Arten enthalten zwischen 52,1 % (*P. incarnata*) und 67,7 % (*P. edulis* und *P. coerulea*) ungesättigte Verbindungen. Diese Verteilung entspricht ungefähr der normalen Zusammensetzung von Fettsäuregemischen in höheren Pflanzen. Nach einer von P. POHL u. H. WAGNER (1972) veröffentlichten Übersichtsarbeit erhöht sich der Anteil der ungesättigten Fettsäuren im Verlauf der Evolution von ca. 40 % bei den Bacteriophyta auf ca. 70 - 80 % bei den höheren Landpflanzen (bezogen auf die Gesamtfettsäuren), wobei in chlorophyllhaltigem Gewebe Öl-, Linol- und Linolensäure dominieren. Dies stimmt mit unseren Befunden an *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis*, *P. incarnata*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* überein.

Von diesem normalen Verteilungsschema weicht *P. foetida* entscheidend ab. Diese Pflanze enthält nur etwa 5,5 % ungesättigte Fettsäuren (bezogen auf die Gesamtfettsäuren), während der Hauptanteil des Fettsäuregemisches mit ca. 83 % von Palmitinsäure gebildet wird. Uns ist keine andere höhere Pflanze bekannt, die eine ähnliche Zusammensetzung des Fettsäuregemisches aufweist.

Tabelle 12: Relative Retentionsvolumina der Fettsäuren, bezogen auf Laurinsäure und prozentuale Anteile am Gesamtgemisch der n-Fettsäuren;
C=P.coerulea, D=P.decaisneana, E=P.edulis,
F=P.foetida, I = P.incarnata, S = P.subpeltata,
W = P.warmingii.

Fettsäure	C	D	E	F	I	S	W	V _{rel.}
Capronsäure	< 0,1	-	-	-	-	-	-	0,22
Önanthsäure	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,27
Caprylsäure	< 0,1	< 0,1	-	-	< 0,1	< 0,1	-	0,35
nicht identifiziert	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,47
Pelargonsäure	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,51
nicht identifiziert	< 0,1	< 0,1	-	-	-	< 0,1	-	0,60
Caprinsäure	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	0,2	< 0,1	< 0,1	0,64
Undecansäure	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	< 0,1	< 0,1	0,74
Laurinsäure	0,3	0,2	0,1	1,2	0,2	0,1	0,1	1,00
nicht identifiziert	-	< 0,1	-	-	-	-	-	1,12
Tridecansäure	-	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,1	1,14
Myristinsäure	0,8	0,5	0,6	2,7	0,3	< 0,1	0,3	1,21
nicht identifiziert	-	-	0,3	-	-	-	0,2	1,26
Pentadecansäure	0,8	0,6	0,4	2,3	0,6	0,9	0,3	1,30
nicht identifiziert	-	-	0,6	1,4	0,4	-	0,5	1,32
Palmitinsäure	25,8	27,2	26,2	83,7	39,2	33,0	27,8	1,39
Palmitoleinsäure	1,0	0,3	1,1	3,9	2,0	3,2	0,2	1,46
Heptadecansäure	0,7	2,2	0,9	2,1	1,3	1,6	< 0,1	1,49
Stearinsäure	3,5	7,6	3,5	2,5	5,3	7,1	6,7	1,59
Ölsäure	2,7	3,7	5,0	-	3,0	6,5	11,3	1,64
Linolsäure	24,7	31,5	29,3	0,2	18,6	25,0	27,4	1,73
Linolensäure	39,3	25,9	31,4	-	28,1	20,8	22,9	1,90
C 20-Fettsäure	< 0,1	0,1	0,5	-	0,6	1,6	-	2,34

2) Kohlenwasserstoffe

In Petrolätherextrakten von oberirdischen Pflanzenorganen finden sich regelmäßig Kohlenwasserstoffe, die zumeist aus dem Wachsüberzug von Blättern stammen (C.H.BRIESKORN u. K.FEILNER, 1968). Ein geringer Teil der Alkane stammt aus Chloroplastenlipiden (P.G.GÜLZ, 1968). Da die Pflanzenoberfläche in nicht geringem Ausmaß den Wasserhaushalt sowie das Verhalten von unkraut- und insektenschädigenden Substanzen bzw. den Umfang ihres Eindringens in darunterliegende Gewebe beeinflusst (C.H.BRIESKORN u. K.FEILNER, 1968), ist eine Kenntnis der jeweils vorliegenden Komponenten wünschenswert. Weiterhin sind Kohlenwasserstoffe zur Charakterisierung von Pflanzen (J.KÖSTENS, 1973; M. v. ARDENNE u. Mitarb., 1965) und begrenzt zur Chemotaxonomie (M.MARTIN-SMITH, 1967) herangezogen worden.

Im Kraut *P. incarnata* wurde bisher n-Nonacosan identifiziert (R.NEU, 1954). Vermutet wurde das Vorkommen von Tri-, Hentria- oder Dotriacontan (E.J. FELLOWS u. C.S.SMITH, 1938). Weitergehende Untersuchungen besonders auch über das Kraut anderer *Passiflora*-Arten sind nicht bekannt.

Die Fraktion der Kohlenwasserstoffe wurde mittels Säulenchromatographie an Kieselgel (Elutionsmittel = Petroläther) aus dem von Fettsäuren befreiten Petrolätherextrakt abgetrennt (s. Trennungsschema, S. 67). Es wurde das Verfahren der Trockensäule nach B.LÖFV u. M.M.GOODMAN (1967) angewendet. Die sauerstoffhaltigen Bestandteile des Extraktes wurden durch Elution mit Äther und Methanol wiedergewonnen (J.G.KIRCHNER u. J.M.MILLER, 1952).

Die auf diese Weise dargestellten Gesamtkohlenwasserstoffe wurden durch Bildung von Harnstoffaddukten in Paraffin- und Terpen-Kohlenwasserstoffe aufgetrennt (W.SCHLENK, 1949; F.WOLF, 1960). Die Paraffin-Kohlenwasserstoffe wurden auf evtl. vorhandene Methylverzweigung hin untersucht (s.exp. Teil, S. 113). Die quantitativen Ergebnisse dieser Fraktionierungen sind in Tab. 13 wiedergegeben. Die Gesamtfraction der Kohlenwasserstoffe beträgt bei sechs der sieben untersuchten Arten je ca. 1 % des Petrolätherextraktes; bei *P. edulis* beträgt sie fast 7 %.

Die Gemische aller untersuchten Arten bestehen nahezu vollständig aus n-Alkanen, aus etwa 3 % Terpen-Kohlenwasserstoffen und aus geringen Mengen an iso-Alkanen.

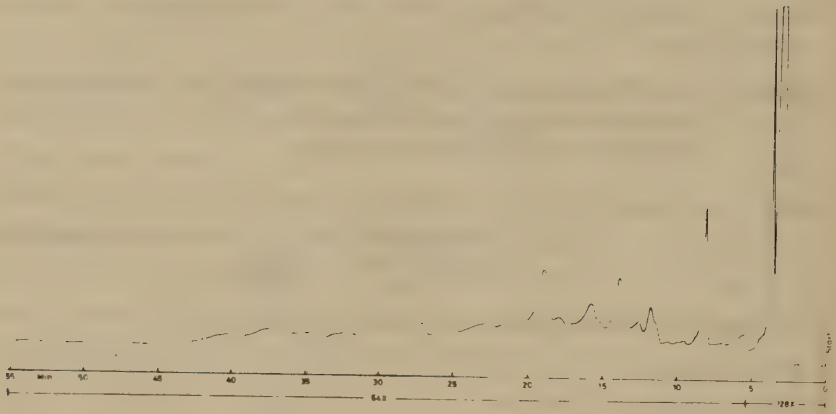
Tabelle 13: Prozentuale Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Fractionen und deren Anteil am Petrolätherextrakt. Die Analysen sind jeweils Mittelwerte aus drei Bestimmungen.

	% Gesamt-KW Petrolätherextr. = 100 %	% vom Gesamtgemisch		
		Terpen- KW	n-Alkane	iso-Alkane
P. coerulea	0,9	3,2	96,8	0,5
P. decaisneana	1,5	3,3	96,3	0,4
P. edulis	6,9	1,3	98,6	0,1
P. foetida	1,0	3,6	96,1	0,3
P. incarnata	1,3	3,6	96,1	0,3
P. subpeltata	1,0	3,8	95,7	0,5
P. warmingii	1,0	3,3	96,2	0,5

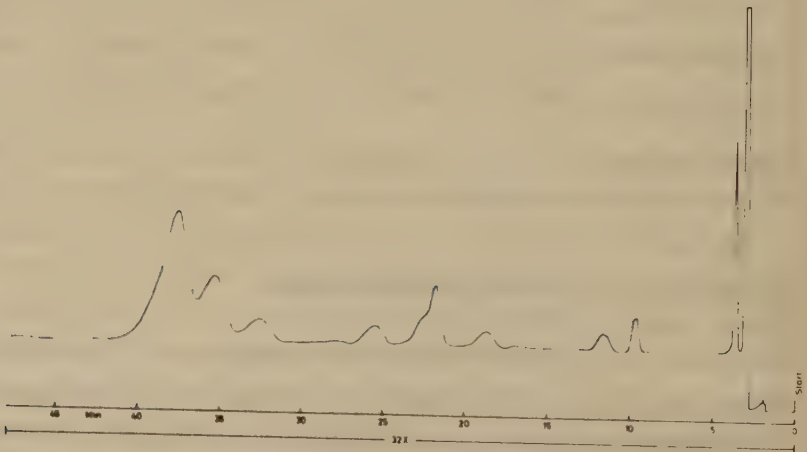
a) Untersuchung der Terpen-Kohlenwasserstoffe

Die Fraktion der Terpen-Kohlenwasserstoffe ist nur mit ca. 3 % am Kohlenwasserstoffgemisch beteiligt. Wegen des geringen Anteils waren nur orientierende gas-chromatographische Untersuchungen vorgesehen. Die Abb.36 zeigt als Beispiel die Fraktogramme der Terpen-KW von P. coerulea und P. foetida. Eine schematische Darstellung der Ergebnisse der sieben untersuchten Arten zeigt die Abb.37.

Es ist ersichtlich, daß sich einige Arten deutlich voneinander unterscheiden. Bei den Peaks unterhalb einer Retentionszeit von ca. 7 min handelt es sich um Monoterpene, wie Versuche mit authentischen Substanzen ergaben.



(a)



(b)

Abb. 36: Fraktogramme der Terpen-Kohlenwasserstoffe von
a) = *P. foetida* und b) = *P. coerulea*
(Makro-Golaysäule 100 m mit Propylenglycol; isotherm
bei 150°).

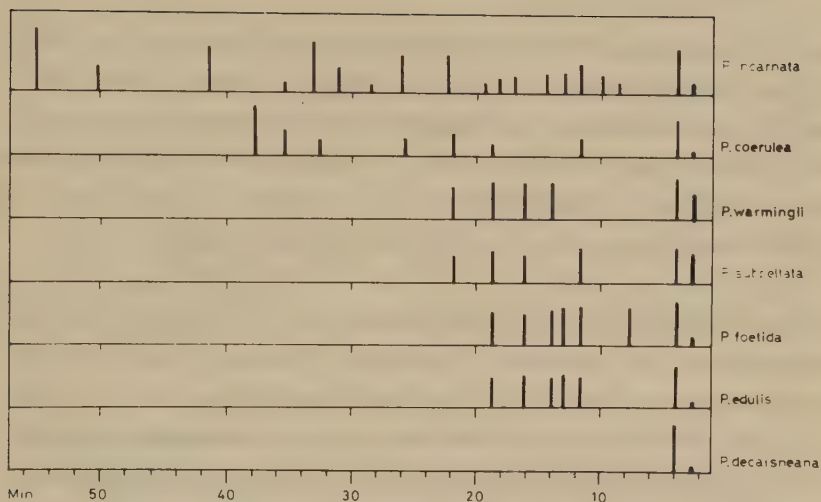


Abb. 37: Schematische Darstellung der Fraktogramme der Terpen-Kohlenwasserstoffe der untersuchten *Passiflora*-Arten; die relativen Strichhöhen geben die Flächen unter den entsprechenden Peaks wieder.

In diesem Bereich sind bei allen Arten zwei Verbindungen nachzuweisen (Retentionszeiten 3,3 und 3,7 min). Beide Verbindungen stellen jedoch nur einen geringen Anteil am Gemisch der Terpen-KW dar. Der weitaus größte Teil wird von Sesqui- bzw. Diterpenen gebildet.

Bei einem Vergleich der einzelnen Arten fällt auf, daß *P. decaisneana* offensichtlich nur Monoterpene enthält. Die Arten *P. edulis*, *P. foetida*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* enthalten Verbindungen mit Retentionszeiten bis maximal ca. 22 min, während *P. coerulea* und *P. incarnata* einige Terpen-KW mit höheren Retentionszeiten enthalten.

Diese orientierenden Untersuchungen zeigen, daß offensichtlich die qualitative Führung der Terpenkohlenwasserstoffe bei den hier untersuchten *Passiflora*-Arten sehr unterschiedlich ist. Inwieweit dies von chemotaxonomischem Wert ist, kann erst nach eingehender Analyse eines größeren Artenmaterials entschieden werden.

b) Untersuchung der n-Alkane

In allen Pflanzenwachsen kommt eine Reihe homologer n-Alkane vor, bei denen die Komponenten mit ungerader C-Zahl überwiegen (P.G.GÜLZ, 1968). Die qualitative und quantitative Zusammensetzung ist jedoch bei jeder Pflanzenart verschieden (s.hierzu P.G.GÜLZ, 1968; W.CARRUTHERS u. R.A.W.JOHNSTONE, 1959; A.J.KOSAK u. J.S.SWINEHART, 1960; J.D.MOLD u.Mitarb., 1963) und von chemotaxonomischem Interesse (M.MARTIN-SMITH u.Mitarb., 1967).

Wir untersuchten die n-Alkane gaschromatographisch mit Hilfe eines Temperaturprogrammes und eines isothermen Programmes. Abb.38 zeigt als Beispiel das Fraktogramm der n-Alkane von *P. foetida* (Temperaturprogramm). Die einzelnen Peaks wurden identifiziert durch Zumischen von authentischen Substanzen und Vergleichen der relativen Retentionsvolumina mit denen eines Gemisches von authentischen Alkanen. Auf diese Weise wurde die homologe Reihe $C_{15}H_{32}$ bis $C_{33}H_{68}$ gefunden. Es zeigten sich nur geringe qualitative Unterschiede zwischen den einzelnen Arten; *P. subpeltata* enthält im Gegensatz zu den anderen untersuchten Arten nur die homologe Reihe bis $C_{31}H_{64}$.

Die prozentualen Anteile der einzelnen Alkane am Gesamtgemisch werden aus den Fraktogrammen ermittelt, indem die Fläche unter den Peaks nach der Näherungsmethode "Höhe x Breite in halber Höhe" berechnet wird (s.exp.Teil, S.101). Die Ergebnisse sind in Tab.14 wiedergegeben.

Bei allen untersuchten Arten herrschen die Alkane mit ungerader C-Zahl vor, was im Einklang steht mit verschiedenen Literaturangaben (u.a. M.MARTIN-SMITH u.Mitarb., 1967; W.RINN, 1970; P.E.KOLATTUKUDY, 1970; J.KÖSTENS u. G.WILLUHN, 1972). Es lassen sich jedoch deutliche Unterschiede hinsichtlich des qualitativen Gehalts bei den einzelnen Arten feststellen. So besteht das Alkangemisch bei *P. edulis* zu über 90 % aus n-Nonacosan und n-Hentriacontan. Eine Unterscheidung der Arten ist möglich nach dem Hauptbestandteil im Alkangemisch: C_{27} bei *P. subpeltata*; C_{29} bei *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis* und *P. incarnata*; C_{31} bei *P. foetida* und *P. warmingii*.

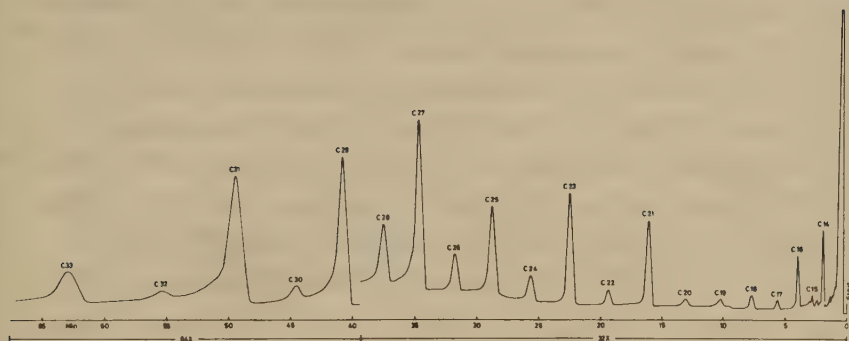


Abb.38: Fraktogramm der n-Alkane von *P. foetida*.
(Stahlsäulen 2 m mit 2,5 % Silicon gummi SE 52 auf Chromosorb G
im Kompensationsbetrieb; programmiert 180 - 270° mit Anstiegs-
rate 2,5° / min.)

Aus der Tab.14 ist weiter ersichtlich, daß bei *P. subpeltata* und *P. coerulea* die Bildung kürzerkettiger Alkane bevorzugt wird, während bei *P. foetida* und *P. warmingii* vorwiegend die längerkettigen Homologen gebildet werden. In der Natur ist die Bildung von C_{29} - und C_{31} -Homologen sehr häufig anzutreffen (P.E.KOLATTUKUDY, 1970; W.RINN, 1970). Insofern sind *P. subpeltata* und *P. coerulea* als Ausnahmen anzusehen, während die anderen untersuchten Arten der normalen Verteilung folgen.

Die Zusammensetzung der Alkane variiert mit dem Entwicklungsstadium und den Anzuchtbedingungen der Pflanzen (P.G.GÜLZ, 1968). Da die von uns untersuchten Arten jedoch unter gleichen Bedingungen kultiviert und nahezu gleichzeitig geerntet wurden, müssen die festgestellten Unterschiede genetisch fixiert sein.

c) Untersuchung der iso-Alkane

Die Auftrennung der harnstoffaddukt-bildenden Komponenten des Kohlenwasserstoffgemisches in n-Alkane und methyl- bzw. dimethylverzweigte Verbindungen gelingt mittels der von C.H.BRIESKORN u. K.FEILNER (1968) beschriebenen Methode der Trennung durch Molekularsiebe (s.auch die Anwendung bei J.KÖSTENS u. G.WILLUHN, 1972).

Tabelle 14: Relative Retentionsvolumina bezogen auf n-Tetracosan und prozentuale Anteile der n-Alkane am Gesamtgemisch der n-Alkane von *P.coerulea* (=C), *P.decaisneana* (=D), *P.edulis* (=E), *P.foetida* (=F), *P.incarinata* (=I), *P.subpeltata* (=S) und *P.warmingii* (=W).

Alkan	V _{rel.}	C	D	E	F	I	S	W
C ₁₅	0,11	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,2	<0,1
C ₁₆	0,15	0,8	0,3	<0,1	0,5	<0,1	1,5	0,9
C ₁₇	0,22	0,2	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	0,4	<0,1
C ₁₈	0,30	0,5	0,2	<0,1	0,2	<0,1	0,4	0,4
C ₁₉	0,40	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
C ₂₀	0,51	0,6	0,1	<0,1	0,1	<0,1	0,1	0,1
C ₂₁	0,63	4,4	<0,1	<0,1	1,6	0,1	0,6	0,4
C ₂₂	0,75	0,8	<0,1	<0,1	0,3	0,1	0,1	0,2
C ₂₃	0,87	4,8	0,2	<0,1	2,4	0,3	1,5	1,0
C ₂₄	1,00	0,4	0,2	<0,1	0,6	0,2	0,3	0,3
C ₂₅	1,12	8,2	2,0	<0,1	2,3	0,9	5,3	3,7
C _?	1,18	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,2	2,6	<0,1
C ₂₆	1,23	1,0	0,4	<0,1	1,0	0,4	1,2	0,8
C ₂₇	1,35	31,6	10,2	1,4	4,6	18,7	63,4	19,7
C ₂₈	1,45	2,6	2,1	1,9	1,8	2,0	2,4	1,1
C ₂₉	1,58	36,4	38,2	62,0	25,5	37,2	14,6	26,5
C ₃₀	1,72	0,9	5,4	1,9	2,5	2,6	0,5	1,9
C ₃₁	1,90	6,3	34,2	30,2	40,2	34,0	2,8	30,6
C ₃₂	2,14	0,1	2,3	0,6	2,5	1,5	-	5,2
C ₃₃	2,44	<0,1	3,2	1,9	13,4	1,6	-	6,8

Mit Hilfe dieser Methode wurde bei allen untersuchten Arten auf methylverzweigte Alkane geprüft. Es wurden jeweils geringe Mengen von iso-Alkanen gefunden (s. Tab.13), die sich gaschromatographisch als einheitlich erwiesen. Die Retentionszeit betrug bei isothermem Programm 7,6 min (255⁰ ; SE 52). Infolge der geringen zur Verfügung stehenden Menge konnte dieses Alkan nicht identifiziert werden. Es handelt sich vermutlich um einen C₂₆-Körper, der dimethylverzweigt ist. 2,23-Dimethyltetracosan konnte jedoch auf Grund gaschromatographischer Vergleiche ausgeschlossen werden (Retentionszeit 7,2 min). ¹⁾

1) Für die Übersendung von Vergleichssubstanzen danke ich Herrn Dr. M. Streibl, Institut für Organ.Chemie und Biochemie, Akademie der Wissenschaften, Prag.

3) Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen der Lipidfraktion

Bei der Untersuchung der Kohlenwasserstoff- und Fettsäurefraktionen von *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. incarnata*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* wurden z.T. für die einzelnen Arten charakteristische Zusammensetzungen gefunden. Da die untersuchten sieben Arten jedoch nur einen sehr geringen Bruchteil der insgesamt 400 *Passiflora*-Arten darstellen, können hieraus zur Zeit keine chemotaxonomischen Schlüsse gezogen werden.

Hinsichtlich der Terpen-Kohlenwasserstoffe fällt *P. decaisneana* dadurch auf, daß nur Monoterpen-Kohlenwasserstoffe enthalten sind, während sich *P. incarnata* und *P. coerulea* von den anderen Arten durch die Führung von Terpen-Kohlenwasserstoffen mit höheren Retentionszeiten unterscheiden. Nach der botanischen Einteilung sind jedoch *P. incarnata* und *P. edulis* auf der einen Seite und *P. subpeltata* und *P. coerulea* andererseits nah verwandt (s. S. 2).

Wenn sich auch auf Grund der vorliegenden Ergebnisse keine chemotaxonomischen Schlußfolgerungen ziehen lassen, können die untersuchten Arten jedoch mit Hilfe der Zusammensetzung der Lipidfraktion eindeutig charakterisiert werden. Da die Pflanzen unter einheitlichen Bedingungen angezogen wurden, müssen diese Unterschiede genetisch fixiert sein.

P. edulis kann auf Grund des erhöhten Vorkommens von Kohlenwasserstoffen und der abweichenden Zusammensetzung des Kohlenwasserstoff-Gemisches identifiziert werden (90 % des Gemisches bestehen aus n-Nonacosan und n-Hentriacontan), während *P. decaisneana* und *P. incarnata* mit Hilfe der Terpen-Kohlenwasserstoffe identifiziert werden können (bei *P. decaisneana* sind nur Monoterpene enthalten, während bei *P. incarnata* Terpene mit sehr langer Retentionszeit vorkommen). Im Kohlenwasserstoff-Gemisch von *P. subpeltata* sind keine C_{32} - und C_{33} -Alkane enthalten.

Mit Hilfe der Fettsäurefraktion können *P. foetida* (es sind kaum ungesättigte Verbindungen enthalten), *P. coerulea* (der Anteil von Linolensäure ist mit fast 40 % gegenüber den anderen Arten um ca. 10 % erhöht) und *P. warmingii* (es fehlt die C_{20} -Fettsäure) identifiziert werden.

IV. Zusammenfassung

1.) Es wurden *Passiflora coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. incarnata*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus angezogen und die oberirdischen Pflanzenteile vergleichend auf ihre Flavonoide, Alkaloide, Fettsäuren und Kohlenwasserstoffe hin untersucht.

2.) Die Fraktion der Flavonderivate wurde durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel, zweidimensionale Papierchromatographie und UV-Spektroskopie analysiert.

Das Vorkommen der bisher in *Passiflora*-Arten identifizierten Flavonderivate Vitexin, Isovitexin, Saponarin, Orientin und Isoorientin wurde auf die von uns untersuchten Arten (bei den einzelnen Arten qualitativ und quantitativ unterschiedlich) erweitert. Darüberhinaus wurden zwei bisher nicht beschriebene Vitexinglucoside (Apigenin-8-C-diglucoside) in *P. decaisneana*, *P. foetida*, *P. warmingii* und *P. coerulea*, sowie Kämpferol-3-monosid und Kämpferol-3-biosid in *P. warmingii* identifiziert. Ferner wurden drei in ihrer Struktur nicht aufgeklärte Flavonoide mit ihren chromatographischen und UV-spektroskopischen Eigenschaften beschrieben.

An freien oder nach Hydrolyse auftretenden Aglyca wurden Apigenin, Luteolin und Kämpferol identifiziert. Zwei weitere nicht identifizierte Aglyca in *P. edulis* und *P. subpeltata* wurden mit ihren chromatographischen und UV-spektroskopischen Eigenschaften beschrieben.

Jede der untersuchten Arten ist auf Grund ihrer Flavonoidführung charakterisiert.

3.) Die quantitative Bestimmung der Gesamtflavonderivate wurde photometrisch durchgeführt. Der Gehalt liegt zwischen 0,19 % (*P. decaisneana*) und 2,01 % (*P. edulis*) der Droge, berechnet als Vitexin.

4.) Bei allen sieben Arten wurde Harman in Konzentrationen zwischen 39 und 85 mg/100 g Droge gefunden. Das Vorkommen dieses Indolalkaloids wird somit auch für *P. decaisneana*, *P. foetida*, *P. subpeltata* und *P. warmingii* nachgewiesen. Andere Alkaloide konnten unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden.

5.) Die Menge der mit Petroläther extrahierbaren Stoffe liegt bei den sieben Arten zwischen 1,1 % (*P. decaisneana*) und 3,4 % (*P. foetida*) der Droge. In 100 g Droge sind zwischen 1,7 (*P. foetida*) und 4,4 mg (*P. war- mingii*) Fettsäuren enthalten. Der Anteil der ungesättigten Fettsäuren an der Gesamtfettsäure-Fraktion ist bei sechs der untersuchten Arten mit ca. 60 % annähernd gleich, während *P. foetida* nur ca. 5,5 % enthält. Hauptfettsäuren sind jeweils Öl-, Linol- und Linolensäure (Ausnahme: *P. foetida*). Die Fraktion der ungesättigten n-Fettsäuren ist bei allen untersuchten Arten gleichartig zusammengesetzt. Es wurde die homologe Reihe von Önanth- bis Stearinsäure nachgewiesen (bei *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis*, *P. incarnata* und *P. subpeltata* auch die C_{20} -Säure). Den Hauptanteil bildet hierbei die Palmitinsäure (*P. foetida* ca. 84 %, alle anderen Arten ca. 26 - 33 %).

6.) Die Menge der Gesamtkohlenwasserstoffe liegt bei den untersuchten Arten bei ca. 1 % des Petrolätherextraktes (Ausnahme: *P. edulis* ca. 7 %). Das Kohlenwasserstoffgemisch ist zusammengesetzt aus ca. 3,5 % nicht näher untersuchter Terpen-Kohlenwasserstoffe (*P. edulis* 1,3 %), Spuren von iso-Paraffinen und mehr als 96 % n-Alkanen.

7.) Die Fraktion der n-Alkane besteht aus der homologen Reihe der Alkane von C_{15} bis C_{33} . Bei den längerkettigen Homologen sind Unterschiede bei den einzelnen Arten festzustellen: *P. subpeltata* enthält keine C_{32} - und C_{33} -Verbindungen; der Hauptanteil des Gemisches wird hier vom C_{27} -Alkan gebildet. Der Hauptanteil des Gemisches wird bei *P. coerulea*, *P. decaisneana*, *P. edulis* und *P. incarnata* vom C_{29} -Alkan gebildet, während bei *P. foetida* und *P. war- mingii* die C_{31} -Verbindungen überwiegen. Bei allen Arten wurde ein durch gleiche Eigenschaften charakterisiertes Iso-Alkan gefunden, das nicht identifiziert wurde.

C. Experimenteller Teil

I. Anbau der Versuchspflanzen

Die in dieser Arbeit untersuchten *Passiflora*-Arten wurden in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens der Philipps-Universität Marburg unter den gleichen Bedingungen kultiviert. Sie werden dort unter folgenden Bezeichnungen bzw. Nummern geführt:

<i>Passiflora coerulea</i> L.	alter Bestand
<i>Passiflora decaisneana</i> Planch.	alter Bestand
<i>Passiflora edulis</i> Sims.	alter Bestand
<i>Passiflora foetida</i> L.	Basel 71/2153
<i>Passiflora incarnata</i> L.	alter Bestand
<i>Passiflora subpeltata</i> Ortega	72/748
<i>Passiflora warmingii</i> Mast.	70/2054

Während des Wachstums wurden die Pflanzen mit METASYSTOX^R der Fa. BAYER und KELTANE^R der Fa. SPIESS und URANIA behandelt.

II. Ernte und Trocknung

Die oberirdischen Pflanzenteile der *Passiflora*-Arten wurden von Juni bis September 1972 in bestimmten Abständen geerntet. Nach der Ernte wurde das Material sofort im Umlufttrockenschrank (HERAEUS, Typ TU 1) bei 45°C getrocknet. Der Trockenverlust betrug ca. 70 %. Anschließend wurde das trockene Pflanzenmaterial mit der Hand grob zerkleinert und in einer Schlagwerkmühle gemahlen (Siebgröße 3). Das nicht sofort weiterverarbeitete Material wurde bei Zimmertemperatur in geschlossenen Gefäßen trocken und lichtgeschützt gelagert. Die Lagerzeit betrug maximal 8 Monate.

III. Extraktion

Die Extraktion des Versuchsmaterials erfolgte mit einer Soxhlet-Apparatur. Hierzu wurden die ca. 2 l-fassenden Kolben mit ca. 250 g trockener, grob gepulverter Droge gefüllt. Die Destillationsgeschwindigkeit wurde so eingestellt, daß ca. alle 45 min ein Überlauf erfolgte.

In Vorversuchen wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln extrahiert, z.B. mit Petroläther (40°-60°), Benzol, Petroläther/Aceton = 9 : 1, Petroläther/Aceton = 1 : 1, Aceton, Chloroform, Methanol und Wasser. Bei dünnschichtchromatographischen Prüfungen erwies es sich, daß mit Petroläther-(40°-60°)- und Methanolextrakten alle gewünschten Stoffklassen gewonnen wurden, während die anderen Lösungsmittel z.T. unvollständig extrahierten. Im folgenden wurde daher ausschließlich mit Petroläther-(40°-60°)- und Methanolextrakten gearbeitet.

Hierbei wurde die Droge bis zur Farblosigkeit der ablaufenden Auszüge extrahiert. Dies beanspruchte bei den Petrolätherextraktionen maximal 2 Tage, während für die Methanolextraktion etwa 4 - 5 Tage notwendig waren. Nach jeweils einem Tag wurde die Extraktionsflüssigkeit erneuert. Die vereinigten Methanolauszüge wurden auf ca. 1 l eingengt, zur Entfernung von Ballaststoffen einen Tag in den Kühlschrank gestellt und anschließend dekantiert. Die klare, dunkelgrüne Lösung wurde im Vakuum schonend vom Methanol befreit; der Rückstand wird im folgenden als Methanolextrakt bezeichnet. Die vereinigten Petrolätherauszüge wurden im Vakuum schonend eingengt; der Rückstand wird im folgenden als Petrolätherextrakt bezeichnet.

IV. Allgemeine Untersuchungsmethoden

1) Analytische Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie wurde auf selbstgestrichenen und auf Fertigplatten (Fa. MERCK) durchgeführt. Erstere wurden mit der Grundausrüstung Nr. 600 der Fa. DESAGA, Heidelberg in einer Schichtdicke von $250\text{ }\mu\text{m}$ bereitet. Zur Herstellung von 5 Platten wurde etwa 30 g Kieselgel mit ca. 60 g Wasser angerührt und auf die Platten aufgetragen (Sorptionsmittel der Fa. MERCK, Darmstadt). Die Aktivierung der Platten erfolgte im Trockenschrank bei 120°C .

Von der Fa. MERCK wurden auch Kieselgel HF₂₅₄-Platten und DC-Alufolien Polyamid 11 F 254 bezogen, während wir die Cellulose-Karten (Alufolie) von der Fa. WOELM, Eschwege erhielten.

In der Regel wurde bei Zimmertemperatur über eine Laufstrecke von ca. 15 cm chromatographiert. Für die Trennungen wurden folgende Systeme benutzt (die Mengen sind als Volumenteile angegeben):

a) Freie Fettsäuren

- α) Adsorbens: Kieselgel H, imprägniert mit Pyranin (3-Hydroxypyren-5,8,10-trisulfonsaures Natrium der Fa. BAYER, Leverkusen)
Fließmittel: Chloroform/Äthylacetat/Ameisensäure = 90 : 12 : 2
Detektion: UV₃₆₀ (Fettsäuren zeigen hellblaue Fluoreszenz)
Literatur: K.D. REHM (1967)

In diesem System findet eine Gruppentrennung in n-Fettsäuren (Rf ca. 0,7), Epoxy-, Monohydroxy- und Dihydroxyfettsäuren (Rf < 0,5) statt.

- β) Adsorbens: Kieselgel HF₂₅₄ silanisiert
Fließmittel: Dioxan/Wasser/Ameisensäure = 60 : 35 : 5
Detektion: Ansprühen mit Phosphormolybdänsäure-Lösung
(20 % in Äthanol 50 %) und 30 min Erhitzen auf 150°C .
(Blaue Flecken auf gelbem Grund)
Literatur: D. HEUSSER (1968).

b) Fettsäuremethylester

- α) Adsorbens: Kieselgel H mit Pyranin imprägniert
Fließmittel: Petroläther (40° - 60°) / Äther = 7 : 3
Detektion: UV₃₆₀ (hellblaue Fluoreszenz der Fettsäuremethylester)
Literatur: K.D.REHM (1967) und E.VIOGUE u. R.T.HOLLMANN (1962).

Die n-Fettsäuremethylester (gesättigt und ungesättigt) haben einen Rf von 0,8 , während oxidierte Säuren einen Rf von < 0,5 aufweisen.

- β) Adsorbens: Kieselgel HF₂₅₄ silanisiert
Fließmittel: Aceton/Methanol/Wasser/Eisessig = 70 : 50 : 35 : 1
Detektion: Ansprühen mit Phosphormolybdänsäure-Lösung
(20 % in Äthanol 50 %) und 30 min Erhitzen auf 150°C .
(blaue Flecken auf gelbem Grund)
Literatur: D.HEUSSER (1968).

Die n-Fettsäuren trennen sich nach der Kettenlänge auf. Langkettige liegen im unteren Bereich, kurzkettige im oberen. Es findet keine befriedigende Trennung der ungesättigten und gesättigten Homologen statt.

c) Fettsäurehydroxamate

- Adsorbens: Kieselgel HF₂₅₄ silanisiert
Fließmittel: Methanol/Dioxan/Chloroform/Glycocollpuffer (pH 3,0) =
4 : 3 : 1 : 4
Detektion: Eisen(III)-chlorid-Lösung (7 ml 10 %ige Eisen(III)-chlorid-Lösung + 3 ml 25 %ige Salzsäure + 45 ml Methanol + 45 ml Äther)
Literatur: D.HEUSSER (1968).

Die Fettsäurehydroxamate trennen sich nach der Kettenlänge auf. Langkettige liegen im unteren Bereich, kurzkettige im oberen.

d) Trennung der gesättigten Fettsäuremethylester von den Hg(II)-acetat-Addukten der ungesättigten Fettsäuremethylester

Adsorbens: 3 Teile Kieselgel H + 7 Teile Kieselgur G
 Fließmittel: Petroläther (60°-80°) / Äther = 8 : 2
 Detektion: Joddampf; gesättigte Fettsäure-ME erscheinen als braune Flecken.
 Literatur: Adsorbens nach WAGNER und POHL (1964),
 Fließmittel nach MANGOLD und KAMMERFECK (1961).

Gesättigte Fettsäuremethylester liegen dicht unter der Front (Rf 0,9), während die ungesättigten Fettsäuremethylester als Hg(II)-acetat-Addukte am Start liegenbleiben.

e) Hg(II)-acetat-Addukte

α) Adsorbens: 3 Teile Kieselgel H + 7 Teile Kieselgur G
 Fließmittel: Dithizonlösung (0,1 % in Äthanol 96 %)
 Hg(II)-acetat-Addukte werden als rosa Flecken sichtbar.
 Detektion: n-Propanol / Eisessig = 100 : 1
 Literatur: MANGOLD u. KAMMERFECK (1961).

β) Adsorbens: s. System e, α
 Fließmittel: iso-Butanol/Ameisensäure/Wasser 100 : 0,5 : 15,7
 Detektion: s. System e, α
 Literatur: WAGNER u. POHL (1964).

f) Flavonoidglycoside

α) Adsorbens: Kieselgel H
 Fließmittel: Essigsäureäthylester/Ameisensäure/Wasser 90 : 10 : 10
 Detektion: UV₃₆₀ (dunkle Flecken) und UV₃₆₀ nach Besprühen mit Bor-Oxalsäure-Lösung (3 Teile 3 %ige Borsäurelösung + 1 Teil 10 %ige Oxalsäurelösung) und anschließendem Frhitzen auf 130° C (hell- oder dunkelgelbe Fluoreszenz)

β) Adsorbens: Kieselgel HF₂₅₄ Fertigplatte MERCK
Fließmittel und Detektion siehe System α).

γ) Adsorbens: Cellulose-Karten WOELM
Fließmittel: n-Butanol / Eisessig / Wasser = 4 : 1 : 5
(Oberphase)
Detektion: siehe System α)
Literatur: SCHILCHER (1967).

δ) Adsorbens: Polyamid 11 F 254, DC Alufolien MERCK
Fließmittel: n-Propanol / Wasser = 6 : 4
Detektion: siehe System α).

g) Flavonoidaglyca

Adsorbens: Kieselgel HF₂₅₄ Fertigplatte MERCK
Fließmittel: Cyclohexan / Methylenchlorid / Ameisensäure /
Ameisensäureäthylester = 35 : 30 : 5 : 30
Detektion: siehe System f).

h) Harmanalkaloide

Adsorbens: Kieselgel G
Fließmittel: Chloroform/Methanol = 8 : 2
Detektion: UV₃₆₀ (blaue Fluoreszenz) und Dragendorffs
Reagenz, modifiziert nach Mounier und Macheboef
(orange Flecken)
Literatur: POETHKE, SCHWARZ u. GERLACH (1970).

2) Präparative Schichtchromatographie

Die präparative Schichtchromatographie wurde, falls nicht anders angegeben, mit selbstgestrichenen Platten durchgeführt. Die Schichtdicke wurde hierbei auf 0,5 µm erhöht, die Aktivierungszeit im Trockenschrank auf etwa 2 h ausgedehnt. Für die im einzelnen durchgeführten präparativen Trennungen galten folgende Bedingungen (Literatur und Herstellung der Lösungen ist bei den Methoden der analytischen Schichtchromatographie erwähnt):

a) Gewinnung der n-Fettsäuren

Adsorbens: Kieselgel H, imprägniert mit Pyranin
Fließmittel: Chloroform / Äthylacetat / Ameisensäure = 90 : 12 : 2
Detektion: UV₃₆₀ (blaue Fluoreszenz der Fettsäuren)
Elution: Äther

b) Reinigung der Fettsäuremethylester

Adsorbens: Kieselgel H, imprägniert mit Pyranin
Fließmittel: Petroläther (40⁰-60⁰)/Äther = 7 : 3
Detektion: UV₃₆₀ (blaue Fluoreszenz der Fettsäure-ME)
Elution: Äther

c) Trennung der gesättigten Fettsäuremethylester von den Hg(II)-acetat-Addukten der ungesättigten Fettsäuremethylester und Auftrennung der Addukte nach der Zahl der Doppelbindungen

Adsorbens: 3 Teile Kieselgel H + 7 Teile Kieselgur G
1. Fließmittel: Petroläther (60⁰-80⁰)/Äther = 8 : 2
2. Fließmittel: n-Propanol / Eisessig = 100 : 1
Detektion: nach 1. Fließmittel: Joddampf
nach 2. Fließmittel: Dithizonlösung
Elution: Äther

Es wurden auf einer Platte zwei Arbeitsgänge durchgeführt: im 1. Fließmittel wurden die gesättigten Fettsäure-ME abgetrennt (Rf ca. 0,9). Die Elution erfolgte mit Äther.

Anschließend wurde dieselbe Platte in derselben Laufrichtung in das 2. Fließmittel gestellt. Es trennten sich die vorher am Start lieengebliebenen Addukte nach der Zahl der vorhandenen Doppelbindungen auf. Die einzelnen mit Dithizonlösung sichtbar gemachten Zonen wurden ausgeschabt und ohne vom Adsorbens zu trennen der Adduktspaltung unterworfen (s.S. 111).

d) Flavonglycoside

Es wurden Kieselgel-Fertigplatten verwendet, da hierauf die besten Trennergebnisse erreicht wurden. Die Detektion erfolgte durch UV₃₆₀.

Die Bedingungen sind bei der analytischen Schichtchromatographie auf S. 97 erwähnt. Die Elution erfolgte mit Methanol 80 %.

e) Harman

Die Reinigung mußte zweimal durchgeführt werden. Die Bedingungen für die Isolierung von Harman sind bei der analytischen Schichtchromatographie auf S. 97 erwähnt. Die Elution erfolgte mit Methanol. Die Reinigung des isolierten Harmans erfolgte mit dem Eluat im Fließmittel Chloroform/Methanol = 50 : 3,5. Hier lag die Harmanzone etwa bei einem R_f von 0,4. Sie wurde abgeschabt, das Adsorbens in einen Meßkolben von 100,00 ml überführt und mit Methanol bis zur Marke aufgefüllt. Nach kräftigem Schütteln wurde die Suspension 1 h lang stehengelassen. Für die Extinktionsmessung (s.S. 104) wurde die klare, überstehende Lösung herauspipettiert.

3) Säulenchromatographie

a) Kohlenwasserstoffe

Es wurde das Verfahren der Trockensäulen nach LOEV u. GOODMAN (1967) angewendet.

Adsorbens:	Kieselgel 60 unter 0,63 mm (MERCK, Best.-Nr. 7729)
Fließmittel:	Petroläther 40 ⁰ -60 ⁰
Elution:	Petroläther 40 ⁰ -60 ⁰

Das Kieselgel wurde in einen unten fest mit Heftklammern verschlossenen und mit kleinen Löchern versehenen Nylo Schlauch von 2,5 cm Durchmesser (Chemische Fabrik Budenheim) unter gutem Rütteln eingefüllt, bis die so erhaltene Kieselgelsäule fest, luftblasenfrei und ca. 40 cm lang war. Die von Fettsäuren befreiten Petrolätherextrakte der einzelnen Passiflora - Arten wurden in 50 ml Petroläther suspendiert und auf die Säule gegeben. Anschließend wurde mit Petroläther entwickelt, bis die Fließmittelfront das Säulenende erreicht hatte. Die weiß gebliebene untere Zone der Säule (R_f ca. 0,4 bis 1,0) wurde abgeschnitten und die Kohlenwasserstoffe eluiert. Für die Trennung wurden ca. 40 h benötigt.

4) Gaschromatographie

Für die analytische Gaschromatographie wurde der Perkin-Elmer Gaschromatograph Fraktometer F 7 mit Flammenionisationsdetektor und ein Hitachi-Perkin-Elmer Flachpult-Kompensationsschreiber Typ 159 verwendet. Die verschiedenen Stoffgruppen wurden unter folgenden Bedingungen untersucht:

a) Fettsäuremethylester

α.) Säule:	1 Paar gepackte Stahlsäulen, Perkin-Elmer Typ 42 S 4257, im Kompensationsbetrieb; 2 m; innerer Durchmesser: 3 mm
Stationäre Phase:	2,5 % Äthylenglycolsuccinat auf Chromosorb G (AW-DMCS), 80 - 100 mesh
Säulentemperatur:	programmiert von 50° - 180°, Anstiegsrate 5°/min, anschließend isotherm bei 180°
Trärgas:	Stickstoff; Strömungsgeschwindigkeit 28 ml/min
Temperatur des Einspritzblocks:	270°
Temperatur des Detektors:	300°
Einspritzmenge:	ca. 0,3 µl
Papiervorschub:	10 mm/min

Die Identifizierung der FS-ME erfolgte durch Vergleich der relativen Retentionsvolumina, bezogen auf Laurinsäuremethylester als Standard, mit denen der authentischen FS-ME. Der Gehalt der einzelnen Fettsäuren im Gesamtgemisch der FS-ME wurde aus dem Fraktogramm der gereinigten Gesamt-FS-ME nach der Näherungsmethode "Höhe x Breite in halber Höhe" unter Verwendung des Korrekturfaktors

$$f = \frac{M}{n \times 12}$$

nach R. KAISER (1965) bestimmt (M = Molekulargewicht, n = Zahl der verfügbaren C-Atome).

β) Isothermes Programm

Alle Bedingungen wie α), außer:

kein Kompensationsbetrieb,

Säulentemperatur 160° isotherm.

b) Terpen-Kohlenwasserstoffe

Säule: Makro-Golaysäule, Perkin-Elmer Typ 4 G 3; Länge: 100 m;
innerer Durchmesser: 1 mm

Stationäre Phase: Polypropylenglycol

Temperatur: isotherm bei 150°

Trärgas: Stickstoff

Strömungs-
geschwindigkeit: 25 ml / min

Temperatur des
Finspritzblocks: 280°

Temperatur des
Detektors: 300°

Finspritzmenge: ca. 0,1 µl

Papiervorschub: 10 mm / min.

c) Paraffin-Kohlenwasserstoffe

α) Säule: 1 Paar gepackte Stahlsäulen, Perkin-Elmer, Typ 42 S 5.57,
im Kompensationsbetrieb; Länge: 2 m; innerer Durchmesser:
3 mm

Stationäre
Phase: Silicongummi SE 52, 2,5 % auf Chromosorb G (AW-DMCS),
80 - 100 mesh

Säulentemp.: programmiert von 180° - 270°, Anstiegsrate 2,5°/min,
anschließend isotherm bei 270°

Trärgas: Stickstoff

Strömungs-
geschwindigkeit: 26 ml / min

Temperatur
des Finspritzblocks: 280°

Temperatur des
Detektors: 320°

Finspritzmenge: ca. 0,8 µl einer 20 %igen Lösung in n-Pentan p.A.

Papiervorschub: 10 mm / min.

Die Identifizierung der n-Alkane erfolgte durch Vergleich der relativen Retentionsvolumina bezogen auf n-Tetracosan, mit denen authentischer Verbindungen. Der Anteil der einzelnen n-Alkane wurde aus dem Fraktogramm nach der Näherungsmethode "Höhe x Breite in halber Höhe" ohne Anwendung eines Korrekturfaktors bestimmt (BRIESKORN u. FEILNER, 1968; RINN, 1970).

β) Isothermes Programm

Alle Bedingungen wie unter c α), außer: kein Kompensationsbetrieb,
Säulentemperatur 160° isotherm.

d) Harmanalkaloide

Alle Bedingungen wie unter c α), außer: Säulentemperatur 150° - 270°,
Anstiegsrate 10° / min.

5) Papierchromatographie

Es wurde auf Papier von SCHLEICHER & SCHÜLL, Nr. 2043 b Mgl. in Faser-richtung chromatographiert. Für eine Papiergröße von 19 x 19 cm wurden normale DC-Kammern benutzt. Die Papierchromatogramme wurden an Fäden aufgehängt und vor dem Eintauchen in das Fließmittel ca. 30 min lang mit dem Lösungsmitteldampf gesättigt. Für die verschiedenen Stoffgruppen wurden folgende Bedingungen gewählt:

a) Flavonglycoside

Die Flavonglycoside wurden zweidimensional chromatographiert.

1. Fließmittel: tert. Butanol / Eisessig / Wasser = 3 : 1 : 1 (TBA)

2. Fließmittel: Essigsäure 15 % (HOAc)

Detektion: UV₃₆₀ nach Ansprühen mit einer Bor-Oxalsäure-Lösung
und Erhitzen auf 130° (gelbe Fluoreszenz)

Literatur: MABRY, MARKHAM u. THOMAS (1970).

Nach dem Entwickeln wurden die Chromatogramme zur Vermeidung von Hydrolysen jeweils gut an der Luft getrocknet (mindestens 2 h), anschließend ca. 10 min lang im Trockenschrank auf 120° erwärmt.

b) Flavonaglyca

Fließmittel: Chloroform / Eisessig / Wasser = 50 : 45 : 10
Detektion: UV₃₆₀ nach Ansprühen mit Bor-Oxalsäure-Lösung
und Erhitzen auf 130⁰ (gelbe Fluoreszenz)
(s.S. 96).

c) Zucker

Fließmittel: Äthylacetat / Pyridin / Wasser = 6 : 3 : 2
Detektion: Ansprühen mit einer Lösung aus 0,6 g p-Anisidin,
0,8 g Phthalsäure in 50 ml Äthanol (dunkelbraune
Flecken auf hellbraunem Grund)

Die Chromatographie wurde aufsteigend auf Papier vom Format 19 x 19 cm durchgeführt.

6) UV-Spektroskopie

a) Qualitative Analysen

Für sämtliche qualitativen Untersuchungen wurde das automatisch registrierende Gerät Spectronic 505 der Fa. BAUSCH & LOMB verwendet. Für die Aufnahme der Spektren wurden Quarz-Küvetten benutzt; die Lösungsmittel waren für spektroskopische Zwecke geeignet.

α) Harman-Alkaloide

Harman und verschiedene andere nach präparativer Dickschichtchromatographie isolierte Substanzen wurden gegen in gleicher Weise behandeltes Methanol gemessen.

β) Flavonoide

Für jedes der nach präparativer Dickschichtchromatographie isolierten Flavon-derivate wurden sechs UV-Spektren gegen Methanol aufgenommen, die mit denen authentischer Substanzen verglichen wurden.

Die Aufnahme und Deutung erfolgte weitgehend nach den von T.J.MABRY u. Mitarb., 1970, angegebenen Standardbedingungen (s.auch L.J.PORTER u. K.R.MARKHAM (1972); K.R.MARKHAM u. T.J.MABRY (1968) und J.A.MEARS u. T.J.MABRY (1972)).

- 1.) Flavon gelöst in Methanol.
- 2.) wie 1.), zusätzlich 6 Tropfen 5 %ige methanolische AlCl_3 -Lösung;
das Spektrum wurde 1 min nach Zusatz der AlCl_3 -Lösung aufgenommen.
- 3.) wie 2.), zusätzlich 3 Tropfen 12,5 %iger Salzsäure.
- 4.) wie 1.), zusätzlich 1 Spatelspitze wasserfreies Natriumacetat;
das Spektrum wurde nach 2 min aufgenommen.
- 5.) wie 4.), zusätzlich 1 Spatelspitze wasserfreie Borsäure.
- 6.) wie 1.), zusätzlich 3 Tropfen 2,5 %ige Natriummethylat-Lösung.

b) Quantitative Analysen

Für die quantitativen Messungen wurde das ZEISS Spektralphotometer PM Q 2, ausgerüstet mit dem Monochromator M4 Q3 verwendet. Für die durchgeführten Bestimmungen wurden folgende Bedingungen gewählt:

α) Harman

Die Messung wurde mit durch zweimalige präparative Schichtchromatographie gewonnener Substanz (s.S. 99) bei 234 nm gegen in gleicher Weise behandeltes Methanol durchgeführt. Als Bezugssubstanz diente authentisches Harman, von dem fünf Lösungen verschiedener Konzentration jeweils zweimal chromatographiert worden waren.

β) Flavonoide

Die UV-Absorption des Gemisches der vorliegenden Flavonoide wurde nach II. SCHILCHER (1967) bei 420 nm gemessen. 5, 10 und 15 ml der Untersuchungs-lösung (s.S. 107) wurden mit 5,0 ml einer 0,1 m methanolischen AlCl_3 -Lösung und 10,0 ml einer gesättigten methanolischen NaOAc-Lösung versetzt. Die Mischung wurde mit Methanol bis auf 50,00 ml aufgefüllt und genau 15 min stehengelassen. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus je drei Bestimmungen; jede Bestimmung wurde gegen einen frisch angesetzten Blindwert gemessen. Als Bezugssubstanz diente Vitexin; hiervon wurden Lösungen verschiedener Konzentrationen in gleicher Weise wie oben beschrieben behandelt und gemessen.

7) IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit dem Infrarot-Spektrophotometer Mod. 700 der Fa. PERKIN-ELMER nach Verpressen der Substanzen zu KBr-Preßlingen aufgenommen. Die Deutung der Spektren erfolgte nach D.H.WILLIAMS u. J.FLEMING (1971). Die breite Absorptionsbande im Bereich von 3400 cm^{-1} bis 2650 cm^{-1} rührt von Valenzschwingungen des Wasserstoffes in OH-Gruppen her, die Absorption bei 1660 cm^{-1} deutet auf das Vorliegen eines α - β -ungesättigten Ketons, während die Absorption bei 840 cm^{-1} von Valenzschwingungen zweier benachbarter aromatischer Protonen verursacht wird (s.Abb. 4 und 6). Weitere Strukturaussagen lassen sich bei Flavonen mit Hilfe der IR-Spektren nicht treffen.

8) Schmelzpunktbestimmung

Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskopheiztisch 350 (Fa.LEITZ, Wetzlar) ermittelt. Sie wurden nicht korrigiert.

V) Untersuchung der Flavonoidfraktion

1) Isolierung der Flavonoide

Die Methanolextrakte von jeweils 1000 g Droge wurden zehnmal in je 500 ml heißem Wasser suspendiert und filtriert. Die Rückstände wurden zur Bearbeitung der Alkaloide verwendet, während die bräunlichen Filtrate vereinigt und im Vakuum auf ca. 200 ml eingeeengt wurden. Diese Wasserextrakte wurden mit Hilfe eines Perforators kontinuierlich mit Äthylacetat extrahiert, bis das ablaufende Äthylacetat farblos war (ca. 3-5 Tage). Zur Schonung der in Essigester gelösten Stoffe wurde dieser alle 12 h erneuert. Die in Äthylacetat nicht löslichen Stoffe wurden zur Bearbeitung der Alkaloide verwahrt, während die Essigesterphasen vereinigt und schonend eingeeengt wurden. Zur Entfernung des Wassers wurden die als FE bezeichneten Rückstände mehrere Wochen lang im Vakuum-exsiccator getrocknet.

2) Hydrolyse der Flavonoidfraktion

Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß zur vollständigen Hydrolyse folgende Bedingungen notwendig waren: Je 100 mg FE wurden in einer Mischung aus 5 ml Methanol, 5 ml Salzsäure (konz.) und 5 ml Wasser gelöst und 6 h auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit NaOH 20 % neutralisiert und auf Glycoside, Aglyca und Zucker geprüft.

3) Isolierung von Aglyca und Zuckern aus Glycosiden

Die Glycoside wurden nach den unter Punkt 2) genannten Bedingungen gespalten. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft, in wenig Methanol aufgenommen und erneut eingedampft. Der Rückstand wurde in 10 ml Wasser aufgenommen und auf eine kurze Polyamidsäule (2 x 1 cm) gegeben. Anschließend wurde mit Wasser eluiert, bis das ablaufende Wasser neutral reagierte (= Fraktion W). Dann wurde mit ca. 100 ml Methanol eluiert, das Methanoleluat eingeeengt und auf Aglyca hin untersucht.

Die Fraktion W wurde am Rotationsverdampfer eingedampft, in wenig Wasser aufgenommen und bis zur neutralen Reaktion mit AMBERLITE, Typ IRA 410, versetzt. Die neutrale Lösung wurde eingengt und papierchromatographisch auf Zucker untersucht.

Das molare Zucker-Aglycon-Verhältnis wurde durch eine halbquantitative densitometrische Zuckerbestimmung nach T.J. MABRY u. Mitarb. (1970) festgelegt. Ca. 1 mg Glycosid wurde - wie oben angegeben - hydrolysiert und die Zucker isoliert. Nach papierchromatographischer Reinigung wurden die entsprechenden, mit p-Anisidin / Phthalsäure angesprühten Flecke (s.S. 103) ausgeschnitten, die Zucker eluiert und die Extinktion bei 400 nm gemessen. Durch Vergleiche mit in gleicher Weise behandelten verschiedenen Konzentrationen von Glucose wurde die absolute und nach Umrechnung die molare Menge Zucker bestimmt.

4) Isolierung einzelner Flavonderivate

Die Flavonderivate wurden durch präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel HF₂₅₄-Fertigplatten MERCK getrennt (s.S. 98). Die Identifizierung erfolgte durch Hydrolyse und Vergleich des chromatographischen und spektroskopischen Verhaltens des Glycosids und Aglycons mit authentischen Substanzen.

5) Gehaltsbestimmungen der Flavonoide

a) Gravimetrische Methode

Eine gravimetrische Gehaltsbestimmung wurde nach H. SCHILCHER (1967) durch Wägen des in Äthylacetat löslichen Anteils des Methanolextraktes (FE s.S. 106) durchgeführt.

b) Photometrische Methode

Auch die photometrische Gehaltsbestimmung wurde in Anlehnung an H. SCHILCHER (1967) durchgeführt. Etwa 50 mg des Rückstandes FE, genau gewogen, wurden in 100,00 ml Methanol p.A. gelöst. Von dieser Untersuchungslösung wurden 5,00 ml, 10,00 ml und 15,00 ml für die quantitative Bestimmung verwendet (s.S. 104, System b₁β).

Zur Eichung wurden die Extinktionen der Lösungen von fünf verschiedenen Konzentrationen von Vitexin in Methanol gemessen.

VI) Untersuchungen an der Alkaloidfraktion

1) Isolierung der Alkaloidfraktion

Die Alkaloide wurden aus dem entfetteten Methanolextrakt gewonnen (s.exp. Teil, S. 106 und Abb.2, S. 7). Es wurden die gleichen Extrakte benutzt, aus denen auch die Flavonoidfraktion isoliert wurde. Der eingeeengte Methanolextrakt von je 1000 g Droge wurde zehnmal mit je 500 ml heißem Wasser versetzt und filtriert. Der Rückstand wurde wie weiter unten beschrieben behandelt, während die vereinigten Filtrate von in Essigsäureäthylester löslichen Anteilen durch kontinuierliche Extraktion mit Essigester im Perforator befreit wurden (s.S. 106). Der nach Digerieren mit Wasser verbliebene Rückstand (s.oben) wurde dreimal mit je 300 ml heißer 3 %iger Salzsäure versetzt, 1 h lang auf dem siedenden Wasserbad erhitzt und filtriert. Die Filtrate wurden mit den von essigesterlöslichen Anteilen befreiten Filtraten (s.oben) vereinigt und im Vakuum auf ca. 100 ml eingeeengt. Mit 10 %iger Ammoniaklösung wurde bis zum pH 9 alkalisiert und anschließend fünfmal mit je 100 ml Äthylacetat ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wurde mit NaOH 40 % bis zum pH 11 alkalisiert und zehnmal mit je 100 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroform- und Äthylacetat-Phasen wurden vereinigt und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde in Meßkolben von 50 ml in Methanol gelöst. Diese Lösung wurde für die qualitativen und quantitativen Untersuchungen verwendet.

2) Anreicherung der Alkaloide

Die Anreicherung der Alkaloide wurde nach der Vorschrift von F.HULTIN (1965) durchgeführt. 10,00 ml Untersuchungslösung wurden eingeeengt, mit 20 ml Pufferlösung pH 11,0 versetzt und dreimal mit je 80 ml Diäthyläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherphasen wurden über Na_2SO_4 sicc. getrocknet und eingeeengt. Die Rückstände wurden ApH_{11} genannt.

Die wäßrig-alkalische Phase wurde solange mit Pufferlösung pH 8,0 versetzt, bis die Gesamtlösung einen pH von 8,0 aufwies (Universalindikatorpapier). Anschließend wurde dreimal mit der doppelten Menge Äther ausgeschüttelt, die Ätherphasen vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Die Rückstände wurden ApH_8 genannt.

3) Bestimmung des Gesamtalkaloid-Gehaltes

Der Gesamtgehalt wurde acidimetrisch in Anlehnung an die von H.AMBÜHL (1966) vorgeschlagene Methode ermittelt. 10,00 ml Untersuchungslösung wurden mit 25 ml frisch ausgekochtem Wasser versetzt, das auf 50 ml 20 Tropfen Methylorange-Mischindikator (DAB 7) enthielt. Als Blindwert diente eine Mischung aus 10,00 ml Methanol mit 25 ml desselben Wassers, das für die Probe verwendet wurde. Die Titration erfolgte mit 0,1 n HCl mit Hilfe einer 1 ml-Bürette mit Ablesegenauigkeit bis zur 2.Dezimalen. 1 ml 0,1 n Salzsäure entspricht 18,2 mg Alkaloiden, berechnet als Harman.

4) Bestimmung des Harmangehaltes

Der Harmangehalt wurde photometrisch ermittelt. 10,00 ml Untersuchungslösung wurden eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und Harman durch präparative Schichtchromatographie im System Chloroform/Methanol = 75 : 25 isoliert (s.S. 99). Das für die Messung noch zu stark verunreinigte Harman wurde ein zweites Mal im System Chloroform/Methanol = 50 : 3,5 chromatographiert. Die bei einem R_f -Wert von ca. 0,4 liegende Harmanzone wurde abgeschabt und ohne vom Adsorbens zu trennen die Extinktion wie auf S.104 beschrieben gemessen. Die Eich- und Elutionskurven wurden mit fünf verschiedenen Konzentrationen von authentischem Harman aufgestellt, das in der gleichen Weise wie oben beschrieben behandelt worden war.

VII) Untersuchungen der Fettsäurefraktion

1) Isolierung der Fettsäuren

Je 20 g Petrolätherextrakt der *Passiflora*-Arten (*P. decaisneana* 17 g) wurden in 200 ml Petroläther suspendiert und anschließend viermal mit je 100 ml 5 %iger wäßriger Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt. Die Petrolätherphase wurde einmal mit 100 ml Wasser gewaschen. Die sich bildenden dunkelgrünen Grenzschichten wurden mit in die wäßrige Phase überführt, da sie zum größten Teil aus Alkalisalzen der höheren Fettsäuren gebildet wurden. Die Petrolätherphase wurde schonend eingeengt und zur Isolierung der Kohlenwasserstoffe weiterverwendet.

Die vereinigten wäßrigen Phasen und Grenzschichten wurden mit 10 %iger HCl angesäuert und fünfmal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt. Die Ätherphasen wurden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und schonend eingeengt. Der Rückstand wurde gebildet von einer dunkelgrünen, viskosen Masse, die neben Fettsäuren noch große Mengen an Verunreinigungen enthielt. Er wurde deshalb wiederum in Petroläther suspendiert und in der oben beschriebenen Weise mit Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt. Der nach dem Ansäuern und Ausäthern der wäßrigen Phase erhaltene Rückstand war nun hellgrün und halbfest. Er wurde mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie gereinigt. Die Zone der n-Fettsäuren wurde isoliert; sie war gelblich und halbfest.

2) Methylierung der Fettsäuren

Die vorliegenden n-Fettsäuren wurden mit Hilfe einer ätherischen Diazomethan-Lösung methyliert. Das Diazomethan wurde nach TH.J. DE BOER u. H.J. BACKER (1956) dargestellt:

2 g p-Toloylsulfonylmethylnitrosamid werden in 30 ml Äther gelöst, mit Eis gekühlt und mit 20 ml 0,5 n methanolischer KOH versetzt. Nach 5 min wird in eine eiskühlte Äthervorlage destilliert.

Die n-Fettsäuren wurden bis zur beständigen Gelbfärbung mit Diazomethanlösung versetzt und über Nacht im Kühlschrank stehengelassen. Der Äther wurde am Rotationsverdampfer entfernt; der Rückstand wurde von n-Fettsäuremethylestern gebildet.

3) Reinigung der Fettsäuremethylester

Die noch leicht verunreinigten Fettsäuremethylester wurden schichtchromatographisch gereinigt. Es wurde eine weiße, halbfeste Masse erhalten.

4) Trennung der ungesättigten von den gesättigten Fettsäuremethylestern

Die ungesättigten Fettsäuren bilden mit Hg(II)-acetat Addukte und können chromatographisch leicht von den nicht reagierenden gesättigten Verbindungen abgetrennt werden (E.JANTZEN u. H.ANDREAS, 1959). Die Hg(II)-acetat-Addukte können wiederum nach der Anzahl der gebundenen Quecksilberatome, resp. nach der Zahl der ursprünglich vorhandenen Doppelbindungen aufgetrennt werden.

Herstellung der Hg(II)-acetat-Addukte nach E.JANTZEN u. H.ANDREAS (1959)

(s.auch W.RINN, 1970):

Ca. 50 mg Fettsäuremethylester wurden mit 1,4 g Hg(II)-acetat, 25 ml Methanol, 0,25 ml Wasser und 0,1 ml Eisessig gelöst. Nach 48 h wurde der Ansatz im Vakuum bei Zimmertemperatur eingedampft, der Rückstand in 15 ml Chloroform suspendiert und zur Entfernung des überschüssigen Hg(II)-acetats fünfmal mit je 10 ml Wasser gewaschen. Die Chloroformlösung wurde über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum bei Zimmertemperatur eingedampft.

5) Adduktspaltung

Die ungesättigten Fettsäuren wurden nach präparativer Schichtchromatographie durch Adduktspaltung nach GLASER u. Mitarb. (1962) wiedergewonnen. Das Adsorbens wurde von den Platten entnommen und für 100 mg Addukte mit 6 ml einer Lösung von 5 % Ammoniumthiocyanat in Methanol und 0,8 ml Salzsäure (37,5 %) versetzt. Die Mischung wurde unter öfterem Umschwenken 1 h lang im Dunkeln stehengelassen. Anschließend wurden 30 ml Wasser zugegeben und dreimal mit je 10 ml Petroläther (40-60°) ausgeschüttelt. Die vereinigten Petrolätherphasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum bei Zimmertemperatur eingedampft. Der Rückstand wurde gebildet von den ungesättigten Fettsäuren.

6) Darstellung der Hydroxamate

Hydroxamsäuren werden aus den Fettsäuren durch Versetzen mit Hydroxylamin dargestellt (ORGANICUM, 1967).

50 mg Fettsäuremethylester wurden mit 5 ml einer Mischung aus 1 Teil 5 %ige methanolische Hydroxylammoniumchlorid-Lösung und 1 Teil 12,5 %ige methanolische Natronlauge versetzt (vom ausfallenden Natriumchlorid wurde abfiltriert). Nach 30 min wurde mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert und filtriert.

7) Hydrierung der ungesättigten Fettsäuren

Ca. 10 mg der über Hg(II)-acetat-Addukte isolierten ungesättigten Fettsäuremethylester wurden in 2 ml Tetrahydrofuran gelöst und unter Zugabe von Platinoxid-Katalysator mit gereinigtem Wasserstoff hydriert. Die Lösung wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Petroläther aufgenommen und filtriert. Nach dem erneuten Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum blieb eine weiße Substanz als Hydrierungsprodukt zurück (W.RINN, 1970).

8) Oxidativer Abbau der ungesättigten Fettsäuren

Die über Hg(II)-acetat-Addukte isolierten Dien- und Trien-FS-ME wurden nach der von RUDLOFF (1956) angegebenen Methode oxidativ abgebaut: 20 mg ungesättigte FS-ME wurden mit 8 ml tert. Butanol, einer Mischung aus 4,172 g NaJO_4 und 0,316 g KMnO_4 in 5,4 ml Wasser, 2,4 ml 0,02 M Kaliumkarbonatlösung und 12 ml Wasser versetzt. Nachdem 2 h lang auf einem Magnetrührer gerührt und mit schwefeliger Säure bis zur Rosafärbung reduziert wurde, wurde nach Zugabe von 5 ml 1 N Kalilauge nochmals 1/2 h unter Luftzutritt gerührt. Nach Filtration und Einengen im Vakuum wurde der Rückstand in Salzsäure aufgenommen und mit Petroläther extrahiert. Die über Na_2SO_4 getrocknete und im Vakuum eingedampfte Petrolätherphase enthielt Säurebruchstücke, von denen nach Veresterung mit Diazomethan gaschromatographisch nur Azelainsäure nachgewiesen werden konnte (s.auch W.RINN, 1970).

VIII) Untersuchungen der Kohlenwasserstoff-Fraktion

1) Isolierung der Kohlenwasserstoff-Fraktion

Die Fraktion der Kohlenwasserstoffe wurde durch Säulenchromatographie (Trockensäulen, s.S. 99) aus dem von Fettsäuren befreiten Petrolätherextrakt gewonnen. Hierzu wurden die eingeeengten Petrolätherextrakte in 50 ml Petroläther (40-60⁰) suspendiert und auf die Säule gegeben. Das Eluat stellte nach Abziehen des Petroläthers eine weiße, feste, schuppige Masse dar.

2) Bildung der Harnstoffaddukte

Die Trennung der Terpen- von den Paraffin-Kohlenwasserstoffen erfolgte durch Bildung von kristallinen Paraffin-Kohlenwasserstoff-Harnstoff-Addukten (H. SCHLENK, 1949; F.WOLF, 1960; s.auch W.RINN, 1970). Ca. 0,5 g Gesamt-Kohlenwasserstoffe wurden in Benzol bei 60⁰ gelöst. Unter gutem Rühren wurde eine gleichwarme Lösung von 5 g Harnstoff in 10 ml Methanol hinzugefügt. Nach 24 h wurden die ausgeschiedenen Kristalle abgenutscht und mit kalter gesättigter methanolischer Harnstofflösung gewaschen. Im Filtrat waren die Terpen-Kohlenwasserstoffe enthalten; die Paraffin-Harnstoffaddukte wurden durch Eintragen in heißes Wasser zerlegt; anschließend wurde unter Natriumchlorid-Zugabe dreimal mit je 30 ml Petroläther (40-60⁰) ausgeschüttelt. Die vereinigten getrockneten Petrolätherphasen wurden im Vakuum eingeeengt. Das die Terpen-Kohlenwasserstoffe enthaltende Filtrat wurde mit 100 ml Wasser versetzt und unter NaCl-Zugabe viermal mit je 30 ml Petroläther (40-60⁰) ausgeschüttelt. Die vereinigten getrockneten Petrolätherphasen wurden im Vakuum eingeeengt.

3) Trennung der Iso- und n-Alkane

Nach der von CH. BRIESKORN u. K.FEILNER (1968) angegebenen Methode wurden 200 mg Paraffin-Kohlenwasserstoffe in trockenem Benzol gelöst und mit 4 g Molekularsieb 5 A (0,2-0,5 mm, aktiviert 6 h bei 400 g; Fa.MERCK) versetzt. Die siedende Mischung wurde 100 h unter Rückfluß gerührt, anschließend filtriert. Die Trennung wurde einmal wiederholt; die vereinigten Filtrate enthielten die methylverzweigten Alkane.

Die n-Alkane wurden vom Molekularsieb durch Kochen mit n-Heptan desorbiert (100 h ; 50 ml n-Heptan). Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt. Der Rückstand der vereinigten Heptanphasen wurde von den n-Alkanen gebildet.

IX) Herkunft der Vergleichssubstanzen

Die Flavonderivate Vitexin, Apigenin, Luteolin und Kämpferol, sowie die Harmanalkaloide Harman, Harmol, Harmin, Harmalol und Harmalin sind im Handel erhältlich (Fa. C.ROTH, Karlsruhe) Für die Überlassung einiger Flavonderivate, u.a. Orientin und Isoorientin, sind wir Herrn Prof.Dr. H.Wagner, München, zu Dank verpflichtet, während uns Proben von Astragalin und Saponarin freundlicherweise von Herrn Dr. H.Sauer, Bonn, zur Verfügung gestellt wurden. Isovitexin wurde durch Säurehydrolyse aus Saponarin dargestellt.

Vergleichssubstanzen für die Untersuchung der Fettsäuren und Kohlenwasserstoffe sind im Handel bei verschiedenen Firmen erhältlich (z.B. Fa.ROTH, Karlsruhe; Fa.FLUKA, Buchs; Fa.MERCK, Darmstadt).

D. TABELLENANHANG

Tabelle 15: hRf-Werte von Flavonglycosiden aus verschiedenen *Passiflora*-Arten.

- System I: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Essigsäureäthylester 90, Ameisensäure 10, Wasser 10;
System II: Schicht: Polyamid; Fließmittel: n-Propanol 6, Wasser 4;
System III: Schicht: Cellulose; Fließmittel: n-Butanol 4, Eisessig 1, Wasser 5 (Oberphase);
System IV: Adsorbens: Papier (zweidimensional); Fließmittel: 1.: t.-Butanol 3, Eisessig 1, Wasser 1; 2.: Essigsäure 15%.

Substanz	isoliert aus	System I	System II	System III	System IV
F 1 I	P. incarnata	8,5	91	50	35/64
Saponarin		8,5	91	50	35/64
F 2 F	P. foetida	14	86,5	38	58/72
F 3 C	P. coerulea	20	93	55	68/89
AF 3 C	P. coerulea	64	90	81	86/67
F 4 D	P. decaisneana	24	86,5	50	56/68
F 5 W	P. warmingii	30	75	57	65/48
F 6 I	P. incarnata	33	66	53	39/31
Isorientin		33	66	53	39/31
F 7 I	P. incarnata	44	73	72	64/47
Isovitexin		44	75	72	64/47
F 8 I	P. incarnata	50	51	31	28/10
Orientin		50	51	31	28/10
F 9 W	P. warmingii	51	71	72	79/55
Astragalin		61	54	70	79/55
F 9 F	P. edulis	51	76	61	64/72
AF 9 F	P. edulis	98	24	21	84/12
F 10 I	P. incarnata	62	61	46	59/18
Vitexin		62	61	46	59/18
F 11 S	P. subpeltata	70	50	81	79/17

Tabelle 16: hRf-Werte von Flavon-Aglyca aus verschiedenen *Passiflora*-Arten.

System V: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Cyclohexan 35, Ameisensäureäthylester 30, Dichlormethan 30, Ameisensäure 5;

System VI: Schicht: Kieselgel; Fließmittel: Toluol 5, Ameisensäureäthylester 4, Ameisensäure 1;

System VII: Adsorbens: Papier; Fließmittel: Chloroform 50, Eisessig 45, Wasser 10 (aufsteigend).

Substanz	isoliert aus	System V	System VI	System VII
A 2 I	<i>P. incarnata</i>	26	46	45
Apigenin		26	46	45
A 1 F	<i>P. foetida</i>	17	39	63
Luteolin		17	39	63
A 3 W	<i>P. warmingii</i>	29	53	52
Kämpferol		29	53	52
A 4 S	<i>P. subpeltata</i>	29	49	61
A 5 F	<i>P. edulis</i>	48	60	95

Tabelle 17: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 1 I aus *P. incarnata* und Saponarin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 1 I und Saponarin (in Klammern)			
Methanol	272 (272)	338 (338)		
Methanol + $AlCl_3$	276 (275)	300 (300)	350 (349)	384 (384)
Methanol + $AlCl_3/HCl$	278 (278)	300 (301)	342 (342)	380 (382)
Methanol + NaOAc	260 sh (260 sh)	272 (271)	349 (350)	390 (390)
Methanol + $NaOAc/H_3BO_3$	270 (269)	341 (341)		
Methanol + NaOMe	271 (271)	304 sh (304 sh)	389 (388)	

Tabelle 18: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 2 F aus *P. foetida*; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 2 F			
Methanol	273	304 sh	333	
MeOH + $AlCl_3$	277	301 sh	341	392
MeOH + $AlCl_3/HCl$	279	301 sh	341	388
MeOH + NaOAc	279	302 sh	387	
MeOH + $NaOAc/H_3BO_3$	273	299 sh	353	
MeOH + NaOMe	282	328	397	

Tabelle 19: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 3 C aus *P. coerulea*; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 3 C				
Methanol	249	273	318		
MeOH + AlCl_3	249	274	319	404	
MeOH + AlCl_3/HCl	249	275	296 sh	328	402
MeOH + NaOAc	248 sh	268 sh	279	383	
MeOH + $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	273	320 sh	355		
MeOH + NaOMe	243	267	282	299 sh	375

Tabelle 20: Absorptionsmaxima der UV-Spektren AF 3 C aus *P. coerulea*; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von AF 3 C				
Methanol	248	272	316		
MeOH + AlCl_3	254	284	332	384	
MeOH + AlCl_3/HCl	252	286	330	385	
MeOH + NaOAc	245	277	367		
MeOH + $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	248	272	322		
MeOH + NaOMe	246	266	286	298 sh	365

Tabelle 21: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 4 D aus *P. decaisniana*; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 4 D				
Methanol	271	302 sh	334		
MeOH + AlCl_3	262 sh	276	304	343	391
MeOH + AlCl_3/HCl	278	303	344	390	
MeOH + NaOAc	279	306 sh	384		
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	267 sh	270	351		
MeOH + NaOMe	281	331	397		

Tabelle 22: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 5 W aus *P. warmingii*; sh = Schulter

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 5 W			
Methanol	266	299 sh	342	
MeOH + AlCl_3	274	301 sh	342	395
MeOH + AlCl_3/HCl	276	302 sh	341	395
MeOH + NaOAc	275	305 sh	381	
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	267	307 sh	354	
MeOH + NaOMe	279	320	394	

Tabelle 23: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 6 I aus *P. incarnata* und Isoorientin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 6 I und Isoorientin (in Klammern)				
Methanol	255 (255)	271 (271)	349 (349)		
Methanol + AlCl_3	278 (278)	302 sh (303 sh)	332 (332)	429 (427)	
Methanol + AlCl_3/HCl	265 sh (265 sh)	279 (279)	296 sh (296 sh)	361 (360)	384 (384)
Methanol + NaOAc	276 (276)	323 (323)	382 (381)		
Methanol + $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	265 (265)	377 (376)	429 sh (425 sh)		
Methanol + NaOMe	267 (267)	277 sh (277 sh)	337 sh (337 sh)	405 (405)	

Tabelle 24: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 7 I aus *P. incarnata* und Isovitexin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 7 I und Isovitexin (in Klammern)			
Methanol	271 (271)	336 (336)		
Methanol + AlCl_3	278 (278)	329 (330)	398 (398)	
Methanol + AlCl_3/HCl	280 (280)	302 (301)	344 (344)	380 (378)
Methanol + NaOAc	279 (279)	303 (303)	365 (366)	
Methanol + $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	274 (274)	346 (344)	408 (408)	
Methanol + NaOMe	278 (278)	328 (328)	399 sh (399 sh)	

Tabelle 25: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 8 I aus *P. incarnata* und Orientin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 8 I und Orientin (in Klammern)				
Methanol	255 (255)	267 (267)	293 sh (293 sh)	346 (346)	
Methanol + AlCl_3	275 (275)	300 sh (299 sh)	325 (325)	424 (423)	
Methanol + AlCl_3/HCl	265 sh (265 sh)	276 (276)	293 sh (293 sh)	357 (357)	384 (382)
Methanol + NaOAc	278 (278)	325 (325)	376 (375)		
Methanol + NaOAc/ H_3BO_3	264 (264)	375 (375)	430 sh (430 sh)		
Methanol + NaOMe	268 (268)	278 sh (278 sh)	335 sh (335 sh)	404 (404)	

Tabelle 26: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 9 W aus *P. warmingii* und Astragalin (in Klammern) ; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 9 W u. Astragalin				
Methanol	266 (266)	299 (298)	341 (350)		
MeOH + AlCl_3	275 (274)	302 sh (305 sh)	342 (351)	395 (400)	
MeOH + AlCl_3/HCl	267 sh (268 sh)	275 (275)	300 sh (302 sh)	342 (346)	394 (398)
MeOH + NaOAc	274 (274)	307 sh (305 sh)	376 (381)		
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	265 (266)	305 sh (300 sh)	355 (354)		
MeOH + NaOMe	278 (274)	322 (325)	393 (400)		

Tabelle 27: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 9 E aus P. edulis;
sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 9 E				
Methanol	259	270	296 sh	349	
MeOH + AlCl_3	272	301 sh	358	401	
MeOH + AlCl_3/HCl	265 sh	278	300 sh	358	391
MeOH + NaOAc	272	282 sh	327 sh	398	
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	266	305 sh	375		
MeOH + NaOMe	270	332 sh	404		

Tabelle 28: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von AF 9 E aus P. edulis;
sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von AF 9 E				
Methanol	260 sh	270	292 sh	349	
MeOH + AlCl_3	275	302 sh	358 sh	404	
MeOH + AlCl_3/HCl	270 sh	276	299 sh	355	388
MeOH + NaOAc	260 sh	270	296 sh	354	
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	267	300 sh	375	440 sh	
MeOH + NaOMe	280	286 sh	406		

Tabelle 29: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 10 I aus *P. incarnata* und Vitexin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 10 I und Vitexin (in Klammern)			
Methanol	270 (270)	302 sh (302 sh)	336 (336)	
Methanol + AlCl_3	277 (277)	305 (305)	350 (350)	386 (386)
Methanol + AlCl_3/HCl	278 (277)	303 (303)	341 (341)	384 (384)
Methanol + NaOAc	280 (280)	301 (301)	375 (374)	
Methanol + NaOAc/ H_3BO_3	271 (271)	329 (328)	342 (342)	
Methanol + NaOMe	279 (279)	328 sh (328 sh)	395 (394)	

Tabelle 30: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von F 11 S aus *P. subpeltata*; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von F 11 S				
Methanol	272	290 sh	336		
MeOH + AlCl_3	262 sh	280	296 sh	355	388
MeOH + AlCl_3/HCl	261 sh	281	295 sh	349	382
MeOH + NaOAc	269 sh	276	318 sh	368	
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	272	341			
MeOH + NaOMe	272	301 sh	382		

Tabelle 31: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von A 1 F aus *P. foetida* und Luteolin; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von A 1 F und Luteolin (in Klammern)				
Methanol	242 sh (242 sh)	253 (253)	267 (267)	291 sh (291 sh)	349 (349)
Methanol + AlCl_3	273 (273)	300 sh (300 sh)	326 (327)	420 (420)	
Methanol + AlCl_3/HCl	266 sh (266 sh)	275 (275)	294 sh (294 sh)	354 (354)	383 (383)
Methanol + NaOAc	269 (269)	326 sh (326 sh)	372 (372)		
Methanol + NaOAc/ H_3BO_3	259 (259)	301 sh (301 sh)	370 (370)	430 sh (429 sh)	
Methanol + NaOMe	265 sh (265 sh)	329 sh (329 sh)	400 (400)		

Tabelle 32: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von A 2 I aus *P. incarnata* und Apigenin ; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von A 2 I und Apigenin (in Klammern)			
Methanol	267 (267)	296 sh (296)	336 (336)	
Methanol + AlCl_3	276 (276)	301 (300)	348 (348)	382 (381)
Methanol + AlCl_3/HCl	276 (276)	300 (300)	341 (341)	380 (380)
Methanol + NaOAc	274 (274)	301 (301)	370 (369)	
Methanol + NaOAc/ H_3BO_3	268 (268)	301 sh (301)	337 (337)	
Methanol + NaOMe	275 (275)	324 (324)	392 (392)	

Tabelle 33: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von A 3 W aus *P. warmingii* und Kämpferol ; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von A 3 W und Kämpferol (in Klammern)				
Methanol	253 sh (253 sh)	266 (266)	295 sh (295 sh)	321 (321)	367 (367)
Methanol + AlCl_3	260 sh (260 sh)	268 (267)	302 sh (302 sh)	350 (350)	424 (424)
Methanol + AlCl_3/HCl	256 sh (256 sh)	269 (269)	302 sh (302 sh)	348 (348)	424 (424)
Methanol + NaOAc	274 (274)	302 (302)	375 (375)		
Methanol + NaOAc/ H_3BO_3	267 (267)	298 sh (298 sh)	320 sh (320 sh)	372 (372)	
Methanol + NaOMe	278 (278)	316 (316)	416 (416)	instabil instabil	

Tabelle 34: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von A 4 S aus *P. subpeltata* ; sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von A 4 S				
Methanol	266	299	336		
MeOH + AlCl_3	248 sh	277	305 sh	328	432
MeOH + AlCl_3/HCl	265 sh	278	302 sh	350 sh	384
MeOH + NaOAc	266	348 sh	404	428 sh	
MeOH + NaOAc/ H_3BO_3	266	374	445 sh		
MeOH + NaOMe	nicht gemessen				

Tabelle 35: Absorptionsmaxima der UV-Spektren von A 5 E aus *P. edulis*;
sh = Schulter.

Lösung in	Absorptionsmaxima von A 5 E				
Methanol	247 sh	270	312		
MeOH + AlCl_3	253 sh	282	327	384	
MeOH + AlCl_3/HCl	253 sh	282	324	384	
MeOH + NaOAc	260 sh	278	358		
MeOH + $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$	271	316			
MeOH + NaOMe	240 sh	266 sh	279	295 sh	360

F. Literaturverzeichnis

- ADAMSKA, M. und J. LUTOMSKI: C-Flavonoidglycoside in den Samen von
Trigonella Foenum-graecum, *Planta med.*,
20, 224 (1972).
- AMBÜHL, H.: Anatomische und chemische Untersuchungen an *Passiflora*
coerulea und *Passiflora incarnata* L., Dissertation,
Zürich 1966.
- ARDENNE, M.v., G.OSSKE, K.SCHREIBER, K.STEINFELDER und R.TÜMMLER:
Über die Sterine von *Solanum tuberosum* L., Sterine und Triterpenoide,
VIII.Mitteilung. *Kulturpflanze* 13, 101 (1965).
- BATYUK, V. S., N.V.CHERNOBROVAYA und D.G.KOFSNIKOW: Flavonoids of the
Hawthorn Structure of Cratenacin, *Khim.Priv.Soedin* 5, 234 (1969).
- BAUER, K.H. und H.MOLL: *Die organische Analyse*, 3.Auflage. Leipzig, 1954.
- BENATTI, E.: *Boll.chim.farmac.*, 106, 756 (1967).
- BERGER, F.: *Handbuch der Drogenkunde*, Bd.4: *Herbae* Wien, 1954, S.379.
- BHUTANI, S. P., S.S.CHIBBER und T.R.SFSHADRI: Components of the Roots
of *Pueraria tuberosa*, Isolation of a New Isoflavon-C-glycoside (Di-O-
acetylpuerarin). *Indian J.Chem.*, 7, 210 (1969).
- BOER DE, TH.J. und H.J.BACKER: *Org.Syntheses*, 36, 16 (1956).
- BORKOWSKI, B.: *Biul.inst.Roslin leczniczych.* (Poznań), 5, 158 (1959).
- BOTTOMLEY, W., H.SMITH und A.W.GALSTON: Flavonoid complexes in *Pisum*
sativum. III. The effect of light on the synthesis of kaempferol and quercetin
complexes. *Phytochemistry*, 5, 117 (1966).
- BRAUN, H.: *Heilpflanzen-Lexikon für Ärzte und Apotheker; Anwendung, Wirkung*
und Toxikologie. Stuttgart, 1968, S.139.
- BRIESKORN, C.H. und K.FEILNER: Zum Aufbau der pflanzlichen Abschlußgewebes:
Die normalen und verzweigten Alkane von *Marrubium vulgare* L. *Phyto-*
chemistry, 7, 485 (1968).

- CARRUTHERS, W. und R.A.W. JOHNSTONE: Nature, 184, 1131 (1959)
zit. in GÜLZ (1968).
- CHRIST, B. und K.H. MÜLLER: Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges., 293,
1033 (1960)
zit. in WICHTL (1971).
- CREASY, L.L.: The significance of carbohydrate metabolism in flavonoid
synthesis in strawberry leaf disks., Phytochemistry 7, 1743
(1968).
- ENGLER, A.: Syllabus der Pflanzenfamilien, 12. Aufl., Bd. II, Berlin 1964.
- ENGLER, A. und K. PRANTL: Die natürlichen Pflanzenfamilien, 21. Bd.:
Parietales und Opuntiales, 2. Aufl., Leipzig 1925,
S. 470.
- FELLOWS, F.J. und C.S. SMITH: The chemistry of *Passiflora incarnata*.
J. of American Pharm. Ass., 27, 565-573 (1938).
- FISCH, A.: Wien. med. Wschr., 82, 162 (1932) in H. AMBÜHL (1966).
- FISEL, J.: Neue Flavonoide aus *Crataegus*. 1. Die Isolierung eines acetylierten
Vitexin-4'-rhamnosides aus *Crataegus*. Arzneimittelforschung 15,
1417 (1965).
- FLÜCK, H. und H. SCHWABE: Planta medica, 16, 257 (1968)
zit. in WICHTL (1971).
- FROHNE, D. und U. JENSEN: Systematik des Pflanzenreiches, Stuttgart, 1973.
- GALLE, K.: Thesis (München), in Vorbereitung. Zit. nach H. WAGNER, 1974.
- GAVASHELI, N. M., I. I. MONIAVA und L. I. FRISTAVI: Khim. Prir. Soedin, 10(1),
95, (1974); zit. in Chemical Abstracts, 81, Heft 6, 60811 (1974).
- GILDEMEISTER, F. und F. HOFFMANN: Die ätherischen Öle, hrsg. von S. TREIBS
und K. BOURNOT, Bd. I-VII, Berlin 1959-1966.
- GLASER, A., G. GRIMMER, E. JANTZEN und H. OERTEL: Eine Methode zur
Bestimmung von Fettsäuren des Humanblutes unter besonderer Berücksichtigung
der in geringen Mengen vorkommenden Fettsäuren. Biochem. Z., 336, 274 (1962).

- GLOTTBACH, B. und H. RIMPLER: Die Flavonoide von *Passiflora incarnata* L., *Passiflora quadrangularis* L. und *Passiflora pulchella* H.B.K. *Planta med.*, 16, 1 (1968).
- GÜLZ, F. G.: Normale und verzweigte Alkane in Chloroplastenpräparaten und Blättern von *Antirrhinum majus*. *Phytochemistry*, 7, 1009 (1968).
- GUNN, J. A.: Handbuch exper. Pharmacol., Erg. W., 5, 184. Berlin, 1937.
- HAGEN, R. F., W. J. DUNLAP, J. W. MEZELLE, S. H. WENDER, B. J. KIME, R. F. ALBACH und F. P. GRIFFITHS: *Analytic. Biochem.*, 12, 472 (1965);
zit. in WICHTL (1971).
- HASBROBE, J. B.: Plant polyphenols XIV: Characterization of flavonoid glycosides by acidic and enzymic hydrolyses. *Phytochemistry*, 4, 107 (1965).
- HASBROBE, J. B.: Comparative biochemistry of the flavonoids. London, New York, 1967 a.
- HASBROBE, J. B.: Comparative biochemistry of flavonoids - V. *Phytochemistry*, 6, 1569 (1967) b.
- HEUSSE, D.: Dünnschichtchromatographie von Fettsäuren auf silanisiertem Kieselgel. *J. of Chromatography*, 33, 62 (1968).
- Hemiparasitische Arzneibuch, 3. Aufl.; Stuttgart 1955. S. 316.
- HOROWITZ, B. M. and B. GENTILE: Structure of Vitexin and Isovitexin. *Chem. a. Ind.*, 493 (1964).
- HOROWITZ, B. M. und B. GENTILE: Long Range Shielding in C-Glycosyl Compounds: Structure of some New C-Glycosylflavones. *Chem. and Ind.*, 1966, 625;
zit. in H. WAGNER (1974).
- HULTIN, E.: Partition Coefficients of Ether-extractable Passionflower Alkaloids. *Acta chemica scand.*, 19, 1431 (1965).
- HUTCHINSON: The Families of Flowering Plants, 2. edit., Vol. I-II. Oxford 1959.
- HYNGAS, M. A., C. VOLK und M. SINN: Linosid a und b, zwei neue Flavon-C-Glycoside aus *Linum maritimum* L.. *Z. f. Naturforsch.*, 27b, 909 (1972).

- JANTZEN, E. und H.ANDREAS: Reaktion ungesättigter Fettsäuren mit Quecksilber(II)-acetat; Anwendung für präparative Trennungen, I.; Chem.Berichte, 92, 1427 (1959).
- KAISER, R.: Chromatographie in der Gasphase. IV: Quantitative Auswertung. S. 201, Mannheim, 1965.
- KATING, H., W.RINN und G.WILLUHN: Untersuchungen über die Inhaltsstoffe von Arnica-Arten. III. Die Fettsäuren in den ätherischen Ölen der Blüten verschiedener Arnika-Arten. Planta med., 18, 130 (1970).
- KILLIP, E.P.: The American Species of Passifloraceae
Botanical Series; Field Museum of Natural History, Vol.XIX,
Part I and II; March 31, 1938. Publication 407.
- KNAURS Pflanzenreich in Farben, 1.Bd.: Höhere Pflanzen 1, Zürich, 1964.
- KIRCHNER, J.G. und J.M.MILLER: Preparation of terpeneless essential oils. A chromatographic process. Ind.Engng.Chem., 44, 318 (1952).
- KOEPPEN, B.H.: Differentiation between C- and O-glycosyl compounds. Phytochemistry, 4, 639 (1965).
- KÖSTENS, J.: Die Triterpene, Sterine und Sterinderivate von *Solanum dulcamara* L.; Dissertation, Marburg, 1973.
- KÖSTENS, J. und G.WILLUHN: Die Alkane von *Solanum dulcamara* L.; Archiv der Pharmazie, 305, 944 (1972).
- KOLATTUKUDY, P.E.: Plant waxes. Lipids, 5, 259-275 (1970);
zit. in KÖSTENS (1973).
- KOSAK, A.J. und J.S.SWINEHART: J.Org.Chem., 25, 222 (1960);
zit. in GÜLZ (1968).
- LEBRETON, P., M.JAY und B.VOIRIN: Chim.analytique, 49, 375 (1967).
Zit. in WICHTL (1971).
- LOEV, B. und M.M.GOODMAN: Dry-Column Chromatography: A Preparative Chromatographic Technique with the Resolution of Thin-Layer Chromatography. Chem. and Ind., 2026 (1967).

- LONGO, R.: Probleme der Standardisierungsmethoden von Heilpflanzenextrakten. Dtsch. Apotheker Zeitung, 108, 1476 (1968).
- LUTOMSKI, J.: Biul. inst. Roslin leczniczych. (Poznan), 5, 158 (1959).
- MABRY, T. J., K. R. MARKHAM und M. B. THOMAS: The systematic identification of flavonoids. Berlin, Heidelberg, New York, 1970.
- MABRY, T. J., H. YOSHIOKA, S. SUTHERLAND, S. WOODLAND, W. RAHMAN, M. ILYAS, I. N. USMANI, N. HAMEED, J. CHOPIN und M. L. BOUILLANT: New C-Glycosyl-flavones from *Phlox drummondii*. Phytochemistry, 10, 677 (1971).
- MANGOLD, H. K. und R. KAMMFRECK: Separation, identification and quantitative analysis of fatty acids by thin-layer chromatography and gas-liquid chromatography. Chem. and Ind. (London), 1032 (1961).
- MARKHAM, K. R. und T. J. MABRY: The identification of twenty-three 5-deoxy- and ten 5-hydroxy-flavonoids from *Baptisia lecontei* (leguminosae). Phytochemistry, 7, 791 (1968) a.
- MARKHAM, K. R. und T. J. MABRY: A Procedure for the Ultraviolet spectral detection of ortho-dihydroxyl-groups in flavonoids. Phytochemistry 7, 1197, (1968) b.
- MARTIN-SMITH, M., G. SUBRAMANIAN und H. F. CONNOR: Surface wax components of five species of *Cortaderia* (Gramineae) - A chemotaxonomic comparison. Phytochemistry, 6, 559 (1967).
- MEARS, J. A. und T. J. MABRY: A procedure for the UV detection of hydroxyl- and methoxyl-groups at C₆ in flavones and 3-O-substituted flavonols. Phytochemistry, 11, 411 (1972).
- MESSERSCHMIDT, W.: Fluorometrische Harmanbestimmung nach dünnschichtchromatographischer Abtrennung. J. chromatogr., 33, 551 (1968).
- MOLD, J. D., R. K. STEVENS, R. E. MEANS und J. M. RUTH: Biochemistry, 2, 605 (1963); zit. in GÜLZ (1968).
- MURAKAMI, T., Y. NISHIKAWA und T. ANDO: Constituents of Japanese and Chinese Crude Drugs. IV. Constituents of *Pueraria* root. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 8, 688 (1960).

- NEU, R.: Inhaltsstoffe der *Passiflora incarnata*. 1. Mitteilung: Die in Alkalien unlöslichen Anteile der Lipoidextrakte. *Arzneimittel-Forschung*, 4 292 (1954).
- NEU, R.: Inhaltsstoffe der *Passiflora incarnata*. *Arzneimittel-Forschung*, 6, 94 (1956).
- NEUGEBAUER, H.: Zur Kenntnis der sedativ wirkenden Inhaltsstoffe von *Passiflora*. *Pharmazie*, 4, 176 (1949).
- NITO DE, G.: *Rass.Terap.Patol.Clin.*, 3, 193 (1931); zit. in H.AMBÜHL (1967).
- NUFER, H.F.E.: Zur Analytik des Lindenblütenöles und der Senföle. Dissertation, München, 1965.
- Organicum - Organisch-chemisches Grundpraktikum, Berlin, 1967, S.367.
- OSWIECISMKA, M.: Dissertat.Pharmac. (Krakau), 10, 229 (1958);
ref. in *Chem.Zentralblatt*, 133, 5764 (1962);
Biol.Abstr., 35, 11571 (1960).
- PARIS, R. und G.FAUGERAS: *Ann.pharmac.franc.*, 18, 29 (1960);
zit. in WICHTL (1971).
- Pharmaceutica Helvetica VI - Schweizer Arzneibuch, 6.Ausg.
- POETHKE, W., CHR.SCHWARZ und H.GERLACH: Über die Inhaltsstoffe von *Passiflora bryonoides*: 1.Mitteilung: Alkaloide. *Planta med.*, 18, 303 (1970) a.
- POETHKE, W., CHR.SCHWARZ und H.GERLACH: Über die Inhaltsstoffe von *Passiflora bryonoides*: 2.Mitteilung: Flavonderivate. *Planta med.*, 19, 177 (1970) b.
- POHL, P., H.GLASL und H.WAGNER: Zur Analytik von Polyen-Fettsäuren. II. Eine standardisierte Mikromethode zur Trennung und oxidativen Spaltung von Polyen-Fettsäuren mit Hilfe von Dünnschicht- und Gaschromatographie. *J.chromatogr.*, 42, 75 (1969).
- POHL, P. und H.WAGNER: Fettsäuren im Pflanzen- und Tierreich (eine Übersicht). I.: Gesättigte und cis-ungesättigte Fettsäuren. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 74, 424 (1972) a.

- POHL, P. und H. WAGNER: Fettsäuren im Pflanzen- und Tierreich (eine Übersicht).
II.: Trans-ungesättigte, Alkin-, Hydroxy-, Epoxy-, Oxo-, Cyclopropan- und
Cyclopropen-Fettsäuren. Fette, Seifen, Anstrichmittel, 74, 541 (1972) b.
- PORTER, L. J. und K. R. MARKHAM: Aluminium complexes of flavanones and
dihydroflavanonols. *Phytochemistry*, 11, 1477 (1972).
- REHM, K. D.: Untersuchungen zur Analytik und über das Vorkommen von Hydroxy-
fettsäuren im Pflanzenreich. Dissertation, München, 1967.
- RIESS, L.: *Wien. med. Wschr.*, 82, 288 (1932); zit. in H. AMBÜHL (1966).
- RINN, W.: Untersuchung der ätherischen Blüten- und Rhizomöle von *Arnica
chamissonis* Less. Dissertation, Marburg, 1970.
- ROTE LISTE. Verzeichnis pharmazeutischer Spezialpräparate; Aulendorf/Württ.,
1972.
- RUDLOFF, v. E.: *Canad. J. Chem.*, 34, 413 (1956); zit. in REHM (1967).
- SAUER, H.: Zur Spezifität des Shinoda-Tests bei Flavononen.
Deutsche Apotheker-Zeitung, 107, 1538 (1967).
- SCHILCHER, H.: Qualitätsprüfung von Handelsdrogen. 4. Mitteilung: *Herba
Passiflorae*. *Dtsch. Apotheker-Zeitung*, 25, 849 (1967).
- SCHILCHER, H.: Zur Kenntnis der Flavon-C-Glycoside in *Passiflora incar-
nata* L. *Zeitschrift f. Naturforschung*, 23b, 1393 (1968).
- SCHINDLER, H.: Die Inhaltsstoffe von Heilpflanzen und Prüfungsmethoden für
pflanzliche Tinkturen. *Arzneimittel-Forschung*, 5, 491 (1955).
- SCHLENK, W.: Über aliphatische Harnstoffaddukte, eine neue Kategorie von Addi-
tionsverbindungen. *Angew. Chem.*, 61, 447 (1949).
- SEIKEL, M. K., J. H. S. CHOW und L. FELDMAN: The Glycoflavonoid Pigments of
Vitex lucens wood. *Phytochemistry*, 5, 439 (1966).
- SEIKEL, M. K. und T. A. GEISSMAN: *Biophys.*, 71, 17 (1957).
- SHINODA, J.: *J. Pharm. Soc. Japan*, 48, 937 (1928); zit. in WICHTL (1971).
- STAHL, E.: *Dünnschichtchromatographie - Ein Laboratoriumshandbuch*, 2. Aufl.,
Berlin, Heidelberg, New York, 1967, S. 655 ff.

- TAKHTAJAN, A.: Flowering Plants Origin and Dispersal. Edinburgh, 1969.
- THEODOSSIOU, PH.: Arch.Pharm.griech.pharm.Ges., 21, 69 (1965).
- TSCHIRCH, A.: Handbuch der Pharmakognosie, 1.Bd., Leipzig (1909), S.72 und 103.
- WAGNER, H.: Flavonoid-Glycoside in ZECHMEISTER: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, 31, 153 (1974).
- WAGNER, H., W.BUDWEG, M.A.IYENGAR, O.VOLK und M.SINN:
Linosid A und B, zwei neue Flavon-C-Glycoside aus *Linum maritimum* L.
Z. f. Naturforsch., 27b, 809 (1972).
- WAGNER, H. und P.POHL: Zur Analytik von Polyenfettsäuren.I.
Biochem.Z., 340, 337 (1964).
- WALLACE, J.W., T.J.MABRY und R.E.ALSTON: On the Biogenesis of Flavone-O-glycosides and C-glycosides in the Lemnaceae. Phytochemistry, 8, 93 (1969).
- WICHTL, M.: Die pharmakognostisch-chemische Analyse - Untersuchung und Wertbestimmung von Drogen und galenischen Präparaten.
Frankfurt/M., 1971, S.415 ff.
- WILDANGER, W. und K.HERRMANN: Qualitativer Nachweis und quantitative Bestimmung von Flavonolen und Flavonen. J.of Chromatogr., 76, 433 (1973).
- WILLIAMS, D.H. und J.FLEMING: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. Stuttgart, 1971.
- WOLF, F.: Harnstoffeinschlußverbindungen aus Zibet sowie ätherischen und konkreten Ölen: Eine neue analytische und präparative Methode.
Riechstoffe und Aromen, 10, 33 (1960).
- WONG, E.: Structural and Biogenetic Relationship of Isoflavonoids in ZECHMEISTER: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, 28, 1 (1970).

Lebenslauf

Am 24. August 1945 wurde ich als Sohn des Dipl.-Volkswirts Wolfram Löhdefink und seiner Ehefrau Ilse, geb. Gohde, in Hannover geboren.

Von 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule, bis 1961 die Bismarckschule in Hannover und anschließend das Matthias-Claudius-Gymnasium in Gehrden, wo ich 1965 das Abitur ablegte.

Meine pharmazeutische Ausbildung begann im April 1965 mit einer zweijährigen Praktikantenzeit in der St. Johannis-Apotheke in Hannover. Nach bestandener Pharmazeutischer Vorprüfung im März 1967 studierte ich an der Philipps-Universität Marburg zunächst ein Semester Mathematik, bis ich im Oktober 1967 dort das Pharmaziestudium aufnehmen konnte. Im Oktober 1970 legte ich die Pharmazeutische Prüfung ab.

Im Oktober 1970 begann ich am Institut für Pharmazeutische Biologie in Marburg die vorliegende Arbeit, die ich im Oktober 1974 zum Abschluß brachte. Gleichzeitig war ich im genannten Institut als wissenschaftlicher Angestellter beschäftigt.

Im Wintersemester 1972/73 und Sommersemester 1973 war ich im Fach Biologie immatrikuliert. Während dieser Zeit habe ich vorwiegend pädagogisch-psychologische Vorlesungen und Seminare besucht.

